



# Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi

Journal of Faculty of Veterinary Medicine,  
Erciyes University

**Yılda 3 sayı yayımlanır**

Published 3 issues per year

**Bu dergi CAB Abstracts, Global Health, Tübitak-Ulakbim (Yaşam Bilimleri) ve Türkiye Atıf Dizini tarafından dizinlenmektedir.**

This journal is reviewed by CAB Abstracts, Global Health, Tubitak-Ulakbim (Life Sciences) and Türkiye Citation Index.

Yıl / Year : 2014  
Cilt / Volume : 11  
Sayı / Number : 1

<http://ercivet.erciyes.edu.tr>  
E-posta: [ercvet@gmail.com](mailto:ercvet@gmail.com)



# 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. İhsan KELEŞ  
Dekan

## Editörler Kurulu / Editorial Board

### Baş Editör / Editor-in Chief

Doç. Dr. Savaş SARIÖZKAN (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

### Editör Yardımcıları / Associate Editors

Doç. Dr. Murat KANBUR (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)  
Doç. Dr. Ebru ÇETİN (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)  
Yrd. Doç. Dr. Murat ABAY (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)  
Yrd. Doç. Dr. Önder DÜZLÜ (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

### Yayın Kurulu / Editorial Consultants

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

### İstatistik Danışmanı / Statistical Editor

Yrd. Doç. Dr. Aytaç AKÇAY (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

### İngilizce Dil Danışmanı / Language Editor

Öğr. Gör. Dr. Şeyda ÖZKAN (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

### Sekreter / Secretary

Arş. Gör. Serhat AL (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)  
Arş. Gör. Benan GÜLZARİ (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)  
Arş. Gör. İmdat ORHAN (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

### Danışma Kurulu\* / Advisory Board

Prof Dr. Mustafa ALIŞARLI (Ondokuz Mayıs Üniv. Vet. Fak.)  
Prof Dr. Şevket ARIKAN (Kırıkkale Üniv. Vet. Fak.)  
Prof Dr. Metin BAYRAKTAR (Fırat Üniv. Vet. Fak.)  
Prof Dr. Ayşegül BİLDİK (Adnan Menderes Üniv. Vet. Fak.)  
Prof Dr. Yavuz CEVGER (Ankara Üniv. Vet. Fak.)  
Prof Dr. Behiç COŞKUN (Selçuk Üniv. Vet. Fak.)  
Prof Dr. Okan ERTUĞRUL (Ankara Üniv. Vet. Fak.)  
Prof Dr. Ahmet GÜMEN (Uludağ Üniv. Vet. Fak.)  
Prof Dr. Erkan KARADAŞ (Afyon Kocatepe Üniv. Vet. Fak.)  
Prof Dr. Oktay KESKİN (Harran Üniv. Vet. Fak.)  
Prof Dr. Ergün KÖROĞLU (Fırat Üniv. Vet. Fak.)  
Prof Dr. Vedat ONAR (İstanbul Üniv. Vet. Fak.)  
Prof Dr. İsa ÖZAYDIN (Kafkas Üniv. Vet. Fak.)  
Prof Dr. Abdullah ÖZEN (Fırat Üniv. Vet. Fak.)  
Prof Dr. Serhat PABUCCUOĞLU (İstanbul Üniv. Vet. Fak.)  
Prof Dr. İsmail ŞEN (Selçuk Üniv. Vet. Fak.)  
Prof Dr. Murat YILDIRIM (İstanbul Üniv. Vet. Fak.)  
Prof Dr. Hüseyin YILMAZ (İstanbul Üniv. Vet. Fak.)  
Prof Dr. Mecit YÖRÜK (Yüzüncü Yıl Üniv. Vet. Fak.)

### Yazışma Adresi / Correspondence

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Dergisi Editörlüğü  
38039-Kayseri / TÜRKİYE

<http://ercivet.erciyes.edu.tr>

**E-posta** : ercvet@gmail.com

**Tel** : 0 352 339 94 84

**Fax** : 0 352 337 27 40

**Yayın Türü:** Yaygın süreli ve hakemli

**Kapak Resmi / Cover Photo:** Yrd. Doç. Dr. Davut BAYRAM

**Kapak Tasarımı / Cover Designer:** Arş. Gör. B. Aycan HİDAYETOĞLU

**Basım / Print:** Önder Ofset Matbaacılık, Kocasinan / KAYSERİ

ISSN-1304-7280

\*İsimler soyadı alfabetik sırasına göre dizilmiştir.

**Bu Sayının Hakemleri\***

|                             |                                     |
|-----------------------------|-------------------------------------|
| Doç. Dr. Nusret APAYDIN     | (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)           |
| Yrd. Doç. Dr. Altan ARMUTAK | (İstanbul Üniv. Vet. Fak.)          |
| Yrd. Doç. Dr. Korhan ARSLAN | (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)           |
| Doç. Dr. İsmail AYTEKİN     | (Balıkesir Üniv. Vet. Fak.)         |
| Doç. Dr. Mehmet Sedat BARAN | (Dicle Üniv. Vet. Fak.)             |
| Prof. Dr. Nazmi ÇETİN       | (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)           |
| Prof. Dr. Bülent EKİZ       | (İstanbul Üniv. Vet. Fak.)          |
| Doç. Dr. Metin ERDOĞAN      | (Afyon Kocatepe Üniv. Vet. Fak.)    |
| Doç. Dr. Raziye Tamay GÜL   | (Ankara Üniv. Vet. Fak.)            |
| Prof. Dr. Vehbi GÜNEŞ       | (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)           |
| Yrd. Doç. Dr. Kanber KARA   | (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)           |
| Prof. Dr. Nuh KILIÇ         | (Adnan Menderes Üniv. Vet. Fak.)    |
| Doç. Dr. Pınar SAÇAKLI      | (Ankara Üniv. Vet. Fak.)            |
| Yrd. Doç. Dr. Murat SELÇUK  | (Ondokuz Mayıs Üniv. Vet. Fak.)     |
| Prof. Dr. Pınar TATLI SEVEN | (Mehmet Akif Ersoy Üniv. Vet. Fak.) |
| Doç. Dr. Gaffari TÜRK       | (Fırat Üniv. Vet. Fak.)             |
| Prof. Dr. Murat YILDIRIM    | (Kırıkkale Üniv. Vet. Fak.)         |
| Doç. Dr. Yeliz YILDIRIM     | (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)           |
| Doç. Dr. Ahmet YILDIZ       | (Atatürk Üniv. Vet. Fak.)           |
| Prof. Dr. Gültekin YILDIZ   | (Ankara Üniv. Vet. Fak.)            |
| Prof. Dr. Alper YILMAZ      | (İstanbul Üniv. Vet. Fak.)          |
| Doç. Dr. Orhan YILMAZ       | (Yüzüncü Yıl Üniv. Vet. Fak.)       |

---

\* İsimler soyadı alfabetik sırasına göre dizilmiştir.

## ARAŞTIRMA MAKALELERİ / RESEARCH ARTICLES

|  |    |
|--|----|
| <b>Kanatlılardan Escherichia coli O157 İzolasyonu Üzerine Çalışmalar</b> .....   | 1  |
| The Studies on Isolation of Escherichia coli O157 from Poultry<br><i>S. ABAY, F. AYDIN, N. ERTAŞ, H. HIZLISOY, S. ERDOĞDU, Z. GÖNÜLALAN</i>  |    |
| <b>Halk Elinde Yetiştirilen Holştayn, Doğu Anadolu Kırmızısı ve Yerli Kara Sığır Irklarında Diacylglycerol O-Acyltransferase 1 (DGAT1) Gen Polimorfizminin PCR-RFLP Yöntemi ile Belirlenmesi</b> ..... | 7  |
| Detection of Diacylglycerol O-Acyltransferase1 ( <i>DGAT1</i> ) Gene Polymorphism with PCR-RFLP Method in East Anatolian Red and Native Black Cattle Breeds at Villages<br><i>O. BAL, B. AKYÜZ</i>     |    |
| <b>Evaluation of Major Cattle Breeds in Turkey for Slaughter and Carcass Traits Using MANOVA and Multidimensional Scaling Technique</b> .....  | 15 |
| Türkiye'deki Başlıca Sığır Irklarının Kesim ve Karkas Özelliklerinin MANOVA ve Çok Boyutlu Ölçüm Tekniği Kullanılarak Değerlendirilmesi<br><i>S. H. KIZIL, M. AYDOĞAN</i>                              |    |
| <b>Kayseri Folklorunda Hayvanlar İle İlgili İnanışlar Üzerine Bir Değerlendirme</b> .....  | 23 |
| An Assessment of Beliefs on Animals in Kayseri Folklore<br><i>R. ÖZEN, E. YÜKSEL</i>   |    |
| <b>Koyunlarda Phlorizin Serum Lipid Profili ve Oksidatif Stress Parametreleri Üzerine Etkisi</b> .....   | 29 |
| The Effects of Phlorizin on Serum Lipid Profile and Oxidative Stress Parameters in Sheep<br><i>İ. KARACA BEKDİK, A. C. ONMAZ</i>   |    |
| <b>Sezon İçi ve Sezon Dışında Koç Spermasının Dondurulmasında Antioksidanların Etkisi</b> .....  | 37 |
| Effect of Antioxidants on Cryopreservation of Ram Semen in and out of Breeding Season<br><i>A.D. ÖMÜR, K. ÇOYAN</i>  |    |

## DERLEMELER / REVIEW ARTICLES

|  |    |
|--|----|
| <b>Propolis ve Fenolik Asitlerin Ruminant Beslemede Kullanımı</b> .....  | 43 |
| Use of Propolis and Phenolic Acids in Ruminant Nutrition<br><i>K. KARA, B. KOCAOĞLU GÜÇLÜ, F. KARAKAŞ OĞUZ</i> |    |
| <b>Selenyum ve Ruminantlarda Kullanımı</b> .....   | 55 |
| Selenium and its Supplementation in Ruminants<br><i>O. KÜÇÜK</i>   |    |
| <b>Sığırlarda Nakil Firesi ve Etkili Faktörler</b> .....   | 63 |
| Transport Shrink and Factors Effective on Transport Shrink in Cattle<br><i>B. TEKE</i>                         |    |
| <b>Nitrik Oksitin Hayvanlarda Beslenme Davranışı ve Bağırsak Motilitesi Üzerine Etkisi</b> .....               | 69 |
| Effect of Nitric Oxide on Feeding Behaviour and Intestinal Motility in Animals<br><i>T. BÜLBÜL</i>             |    |

## OLGU SUNUMU / CASE REPORT

|   |    |
|---|----|
| <b>Bir Atta Ateşli Silah Yaralanmasına Bağlı İkinci Falanks Kırığının Tanı ve Sağaltımı</b> .....                                     | 77 |
| Diagnosis and Treatment of a Fractured Phalanx Media in a Horse Caused by a Gunshot Wound<br><i>E. KILIÇ, S. YAYLA, C. Ş. ERMUTLU</i> |    |





## Kanatlılardan *Escherichia coli* O157 İzolasyonu Üzerine Çalışmalar\*

Seçil ABAY<sup>1</sup>, Fuat AYDIN<sup>1</sup>, Nurhan ERTAŞ<sup>2</sup>, Harun HIZLISOY<sup>1</sup>, Sevgi ERDOĞDU<sup>1</sup>,  
Zafer GÖNÜLALAN<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji ABD, 38039, Kayseri-TÜRKİYE

<sup>2</sup> Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi ABD, 38039, Kayseri-TÜRKİYE

<sup>3</sup> Manas Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 720044, Bişkek-KIRGIZİSTAN

**Özet:** Bu çalışmada kanatlı orijinli çeşitli materyallerde *Escherichia coli* O157 prevalansının saptanması amaçlandı. Bu amaçla 400 broiler et örneği, 400 broiler barsak içeriği, 400 yumurtacı tavuklara ait dışkı örneği ayrıca özel bir kanatlı mezbahanesinin farklı birimlerinden (haşlama tank suyu, duvar ve iç organ çıkarılma ünitesi) alınan 80 adet swap örneği çalışmaya dahil edildi. Materyaller Mart 2010 ile Şubat 2011 arasındaki bir yıl süresince 3 ay aralıklarla (her mevsim) alındı. *E.coli* O157'nin izolasyonu, novobiocin'li *E.coli* buyyonda ön zenginleştirme, bunu takiben immunomanyetik separasyon ile SMAC (Sorbitol MacConkey) ve CHROM agara ekim aşamalarından oluştu. Buna göre toplam 1280 örneğin SMAC ve CHROM agarda meydana getirdikleri koloniler göz önünde bulundurulduğunda 116'sı *E.coli* O157 yönünden pozitif olarak değerlendirildi. Yüz onaltı örnekten alınan 334 koloni fenotipik testler ile *E.coli* yönünden incelendi ve tümü *E.coli* olarak doğrulandı. Tüm izolatlar *E.coli* O157 açısından Lateks aglutinasyon testine tabi tutuldu ve 2 tanesi broiler dışkı ve 6 tanesi de tavuk kesimhane örnekleri olmak üzere 8'i pozitif bulundu. Bu 8 adet *E.coli* O157 şüpheli izolat, polimeraz zincir reaksiyonu testi ile *E.coli* O157 yönünden negatif bulundu. Elde edilen sonuçlar Kayseri yöresinde kanatlı hayvanların ve bunlara ait et örneklerinin *E.coli* O157 serotipini taşımadıklarını göstermekle beraber değişik lokalizasyonlarda daha fazla sayıda kanatlı orijinli örneğin bu bakteri yönünden incelenmesinin yararlı olacağını göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Broiler, *Escherichia coli* O157, immunomanyetik separasyon, kanatlı kesimhanesi, yumurtacı tavuk

### The Studies on Isolation of *Escherichia coli* O157 from Poultry

**Summary:** In this study, the determination of *Escherichia coli* O157 prevalence in different poultry originated materials was aimed. For this purpose, 400 meat samples and 400 intestinal contents of Broilers grown in Kayseri, 400 stool samples of laying hens and 80 swap samples taken from various poultry processing units (boiling tank water, walls and removing unit of intestinal organs) were evaluated in this study. The materials were taken between March 2010 and February 2011 with three month intervals (each season). The isolation period was formed in phases including pre-enrichment of *E.coli* broth with novobiocin (20mg/L), immunomagnetic separation, and seeding on SMAC (MacConkey with sorbitol) and CHROM agar. Considering the colonies appeared on SMAC and CHROM agar, 116 of 1280 samples were found to be *E.coli* O157 positive. The 334 colonies taken from 116 samples were investigated with phenotypic tests for *E.coli* and all of them were confirmed as *E.coli*. These isolates were subjected to latex agglutination test for *E.coli* O157 and in total 8 samples, 2 broiler stools and 6 poultry processing samples, were found positive. These 8 suspicious *E.coli* O157 strains were found *E.coli* O157 negative by Polymerase Chain Reaction. The results showed that poultry and their poultry meat samples collected in this study did not carry *E.coli* O157 in Kayseri and the investigation of greater number of poultry originated samples from different locations for *E.coli* O157 is suggested.

**Key Words:** Broiler, *Escherichia coli* O157, immunomagnetic separation, laying hens, poultry processing plant

### Giriş

*Escherichia coli*, memeliler, kuşlar ve çoğu sıcakkanlı hayvanlarda gastrointestinal sistemin normal flora üyesidir (24). İnsanlarda ve hayvanlarda değişik patogeneze ile seyreden çeşitli hastalıklara sebep olmaktadır. Bu hastalıklar arasında üriner sistem enfeksiyonları, septisemi, menenjit, enterik enfeksiyonlar, yara enfeksiyonları ve mastitisler yer almaktadır (3, 4, 15, 24). Gastrointestinal sistem enfeksiyonlarından izole edilen suşlar, virulens özellikleri, patojenite mekanizmaları, klinik semptomlar

ve serolojiye dayalı olarak patojenite gruplarına göre kategorize edilirler (5, 24). Günümüzde *E.coli*'nin serolojik tiplendirilmesinde Kauffman tarafından şematize edilen serolojik sınıflandırmanın modifiye edilmiş hali kullanılmaktadır. Modifiye Kauffman şemasına göre *E.coli*'ler O (somatik), H (flagellar) ve K (kapsüller) yüzey antijenlerine göre serogruplara ayrılmıştır (15). *E.coli* serotipleri içerisinde zoonoz olması nedeniyle en önemli yere sahip serotip *E.coli* O157:H7'dir (24). İlk kez 1983 yılında ABD'de (California) ağır kanamalı diyare geçiren bir kadın hastadan izole edildiği bildirilmiştir (18).

*E.coli* O157:H7 serotipi köpek, kanatlı, koyun, geyik ve insanda görülmekle beraber primer rezervuar olarak sığır kabul edilmektedir. İnsanlarda bu etkenin

Geliş Tarihi / Submission Date : 06.05.2013

Kabul Tarihi / Accepted Date : 27.06.2013

\* Bu araştırma 24-27 Eylül 2012 tarihleri arasında X. Ulusal Veteriner Hekimleri Mikrobiyoloji Kongresi'nde poster olarak sunulmuştur.

neden olduğu şiddetli enterokolitis ile seyreden pek çok salgın bildirilmiştir. Bu salgınlar genellikle kontamine et, süt ve süt ürünlerinin tüketimi ile ilişkilendirilmiştir. Aynı zamanda sığır dışkıları ile kontamine su, toprak, pastörize edilmeyen elma suları, meyve ve sebzeler salgınlar için önemli kaynakları oluşturmaktadır. Salgınlar sırasında etkenin insandan insana geçebilmesi, sporadik olguların önemini artırmaktadır (12, 25). İnsanlarda *E.coli* O157:H7'nin yapmış olduğu hastalıklar tipik ve oldukça ağır seyirli hemorajik kolitis, hemolitik üremik sendrom (HUS) ve trombotik trombositopenik purpura (TTP) olmak üzere 3 şekildedir (11).

Kanatlı eti günümüzde protein ihtiyacı için en fazla tüketilen etler arasında yer almaktadır. Dünyada çeşitli ülkelerde ve ülkemizde kanatlılarda *E.coli* O157 serotipinin prevalansının saptanmasına yönelik çalışmalar bulunmaktadır. *E.coli* O157 serotipinin rezervuar konak sayısının fazla olması etkene ait epidemiyolojinin bilinmesini gerekli kılmaktadır. Bu çalışmada kanatlı orijinli çeşitli materyallerde *E.coli* O157 prevalansının fenotipik ve moleküler yöntemlerle saptanması amaçlandı.

### Gereç ve Yöntem

#### Broiler tavuk eti ve barsak numunelerinin toplanması

Özel bir işletmeye ait kanatlı hayvan kesimhanesinde kesilen tavuklardan ve Kayseri şehir merkezinde satışa sunulan broiler karkaslarından her üç ayda bir 100'er adet olmak üzere toplam 400 adet broiler tavuk eti örneği (örnekler tüm karkas, kanat, göğüs, but şeklinde alındı) ve yine aynı kesimhaneden her üç ayda bir 100 adet olmak üzere toplam 400 adet barsak (duedonum ve kloaka arası) numunesi alındı.

#### Yumurtacı tavuklardan dışkı numunelerinin toplanması

Kayseri'deki yumurtacı tavuk kümeslerinden, altlıklardaki dışkı örneklerinden her üç ayda bir 100 adet olmak üzere toplam 400 adet dışkı örneği alındı.

#### Kesimhaneden örnek toplanması

Kayseri ve çevre ilçelerinde yetiştirilen broilerlerin kesildiği özel bir kesimhanenin farklı bölümlerinden (haşlama tank suyu, duvar ve iç organ çıkarılma ünitesi vb.) her üç ayda bir 20 adet olmak üzere toplam 80 adet numune toplandı.

Bütün örnekler Mart 2010-Şubat 2011 tarihleri arasında her mevsim eş zamanlı olarak alındı.

#### Standart suş

Fenotipik testler, moleküler analiz, serogruplandırma ve immunomanyetik seperasyon aşamalarında

kontrol amacıyla kullanılan *Escherichia coli* O157:H7 (RHFS 232) referans suşu Refik Saydam Hıfzısıhha Entitüsü'nden temin edildi.

#### Primerler

İzole edilen *E.coli* O157 şüpheli izolatların moleküler olarak doğrulanması amacıyla Maurer ve ark. (13)'nin bildirmiş olduğu rfbO157 gen bölgesine ait LPS O157 virulens gen primerleri [O157PF8 CGTGATGATGTTGAGTTG, O157PR8 AGATTGGTTGGCATTACTG] kullanıldı.

#### *E.coli* O157 izolasyonu

*E.coli* O157 izolasyon prosedürü için çalışma kapsamında incelenen kanatlı orijinli örneklerden belirli miktarlarda alınarak ön zenginleştirmeye tabi tutuldu. Bu amaçla broiler tavuk etlerine ait numunelerden aseptik koşullarda 25 gr tartılarak, novobiocin (20 mg/l, SR0181E, Oxoid, İngiltere) içeren 225 ml *E.coli* broth (CM0990, Oxoid) bulunan steril stomacher poşeti içerisinde homojenize edildi. Broiler barsaklarının farklı bölgelerinden (sekum, kolon ve kloaka) 10-20 gr dışkı alınarak novobiosinli (20 mg/L) *E.coli* broth içerisinde 1/10 oranında sulandırıldı ve stomacher poşeti içerisinde 1 dakika homojenize edilerek 50 ml'lik ağız vida kapaklı steril tüplere aktarıldı. Kanatlı kesimhanesinden alınan svaplar ise 10 ml novobiosinli GN broth (Gram negative broth, Sigma G9288) içerisinde homojenize edildi. Tüm örneklerden hazırlanan bu homojenatlar immunomanyetik separasyon işlemi öncesi 37°C'de 16-18 saat aerobik ortamda inkübasyona tabi tutuldu (8, 9).

#### İmmunomanyetik separasyon yöntemi (IMS)

Bu yöntemde numuneler ön zenginleştirme işlemi sonrası Dynabeads anti-*E.coli* O157 (71004, Invitrogen, DYNAL, Norveç) kullanılarak immunomanyetik separasyona tabi tutuldu. İmmunomanyetik seperasyon işlemi üretici firmanın direktifleri doğrultusunda yapıldı. İmmunomanyetik separasyon işleminden elde edilen *E. coli* O157 Dynabead ve bakteri kompleksi içeren örneklerden 50 µl alınarak cefixime tellurite (CT supplement 109202, Merck, Almanya) supplement'li Sorbitol MacConkey Agar (SMAC Agar-109202, Merck ) ve CHROM agara (CHROMagar™ O157, EE222, Fransa) ekildi ve 37°C'de 18-24 saat inkübe edildiler. İnkübasyon süresi sonunda, CT supplement'li SMAC agar'da üreyen nonfermentatif koloniler ve CHROM agarda üreyen leylak renkli koloniler değerlendirilmeye alındı (8, 9, 23).

#### Biyokimyasal testler

Sorbitol MacConkey Agar ve CHROM agar'da üreyen kolonilerin *E.coli* yönünden doğrulanması için Gram



boyama ve biyokimyasal testlerden (indol, metil red (MR), voges proskauer (VP), sitrat, oksidaz, β-glukuronidaz, lizin dekarboksilaz, hidrojen sülfür (H<sub>2</sub>S), glukoz, laktöz ve sakkaroz fermentasyonu) yararlanıldı (9, 16).

### Serolojik identifikasyon

Elde edilen izolatların doğrulanması amacıyla serolojik identifikasyondan yararlanıldı. Test pozitif kontrol eşliğinde *E.coli* O157 lateks test kiti (DR0620M, Oxoid, İngiltere) kullanılarak yapıldı (8). Testte aglutinasyon veren izolatlar O157 serotipinin moleküler olarak doğrulanması amacıyla gliserinli buyyon (%15) içerisinde -80 °C'de muhafaza edildiler.

### Moleküler analiz

İzolatların *E.coli* O157 olarak doğrulanması amacıyla polymerase chain reaction (PCR) kullanıldı. Numunelerden izole edilen ve lateks kiti ile pozitif reaksiyon veren *E.coli* O157 serotipine ait izolatların DNA'ları, DNA ekstraksiyon kiti (Axygen, Bioscience, Amerika Birleşik Devletleri) kullanılarak ekstrakte edildi. Ekstraksiyon işlemi, kit üretici firmanın direktifleri doğrultusunda gerçekleştirildi. Serolojik olarak *E.coli* O157 olarak saptanan izolatların moleküler olarak doğrulanması amacıyla Maurer ve ark. (13)'ün kullandıkları PCR protokolü kullanıldı. Amplikonlar % 1.5'lik agaroz jelde elektroforeze tabi tutuldu ve sonuçlar bilgisayarlı jel dokümantasyon sisteminde analiz edildi. Analiz sonucunda elde edilen görüntüler termal yazıcı ile resmedildi. *E.coli* O157 yönünden pozitifliğin kabul edildiği bant büyüklüğü yaklaşık 420 bp olarak bildirilmiştir (13).

### İstatistik analiz

Kanatlı orijinli örneklerin mevsimlere göre konvansiyonel kültür yöntemi ile *E.coli*O157 yönünden şüpheli koloniyeye sahip olma oranları arasındaki fark Ki-kare testi ile araştırıldı.

### Bulgular

Çalışma kapsamında *E.coli* O157 yönünden incelenen toplam 1280 örneğin CHROM agardaki koloni rengi (leylak renkli koloni oluşumu pozitif olarak değerlendirildi) göz önünde bulundurulduğunda 334'ü pozitif olarak değerlendirildi.

Çalışmanın başlangıcındaki izolasyon aşamasında; örnekler immunomanyetik separasyon aşamasından sonra hem SMAC agar hem de CHROM agara ekilerek çalışma bu iki besiyerinin birlikte kullanılmasıyla yürütüldü. Ancak bu iki besiyerindeki *E.coli* O157 yönünden şüpheli, koloniler değerlendirildiğinde CHROM agarın daha seçici olduğu gözlemlendiğinden dolayı çalışmaya sadece CHROM agar kullanılarak devam edildi. Bununla birlikte CHROM agarda üreyen

şüpheli koloniler daha sonra SMAC agara ekilerek sorbitolü fermente etmeyen, nonfermentatif özellikte oldukları da teyit edildi.

Dört mevsim için toplanan örneklerin CHROM agara ekimleri sonucunda üreyen kolonilerin yapısı ve rengi göz önünde bulundurulduğunda elde edilen pozitiflik sayısı ve izolat sayısı Tablo 1'de verilmiştir.

Bu tabloda görüleceği üzere her örnekten ekim sonrası gözlenen leylak pembe renkli koloniler pozitif olarak değerlendirildi ve bir örnekten bu özelliğe sahip 3 koloni seçilerek pasajlandı ve saf kültür halinde diğer testler için saklandı. Tablo 1'de verilen pozitif örnek sayısı ile elde edilen izolat sayısının uyumlu olmadığı görülmektedir. Bu durum bazı pozitif örneklerde *E.coli* O157'ye özgü leylak pembe renkli koloni sayısının 1 veya 2 ile sınırlı kalmasından kaynaklanmıştır.

### Biyokimyasal test sonuçları

Dört mevsim sonunda dört farklı kaynaktan alınan 1280 adet örneğin incelenmesi sonucu toplam 334 adet *E.coli* O157 şüpheli izolat biyokimyasal testler sonucunda *E.coli* olarak tanımlandı. Örneklerin mevsimlere göre konvansiyonel kültür yöntemi ile *E.coli* O157 şüpheli koloniyeye sahip olma oranları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmadı (p>0.05).

### Serolojik identifikasyon sonuçları

Biyokimyasal testler ile tanımlanan 334 *E.coli* izolatının, lateks aglutinasyon testi ile yapılan serolojik yoklamasında 8 adedi *E.coli* O157 olarak tanımlandı.

### Moleküler analiz sonuçları

Serolojik yoklamada *E.coli* O157 olarak tanımlanan 8 adet izolatın, *E.coli* O157'nin rfbO157 gen bölgesine spesifik primerler ile yapılan PCR protokolünde, beklenen 420 bp büyüklüğündeki bantlar elde edilemedi ve izolatların tamamı bu bakteri yönünden negatif bulundu.

### Tartışma ve Sonuç

Yurdumuzda ve diğer ülkelerde *E.coli* O157 serotipinin gerek kanatlı hayvanların sindirim sistemlerindeki varlığının saptanması gerekse kanatlı etlerindeki kontaminasyon durumlarına ilişkin çeşitli araştırmalar yürütülmüştür. Çalışmamızda kanatlı orijinli örneklerde *E.coli* O157 serotipi, IMS ve klasik kültür yöntemi ile izole ve tanımlandıktan sonra, serolojik olarak pozitif saptanmıştır ancak izolatlar moleküler yöntemlerle *E.coli* O157 olarak doğrulanmadığı için örnekler bu etken yönünden negatif olarak değerlendirilmiştir. Yurdumuzda yürütülen çalışmalarda; Mercanoğlu ve Aytaç (14) Kasım

**Tablo 1.** Çalışmada kullanılan materyallerin alındığı mevsimlerdeki, pozitif örnek sayıları ve elde edilen izolat sayıları.

| İncelenen örnek                  | Alındığı Mevsim | İncelenen örnek sayısı | <i>E.coli</i> O157 yönünden şüpheli koloniyeye sahip pozitif örnek sayısı (%) | Elde edilen <i>E.coli</i> O157 şüpheli izolat sayısı | Lateks aglutinasyon testi ile <i>E.coli</i> O157 olarak doğrulanan izolat sayısı |
|----------------------------------|-----------------|------------------------|---|--|--|
| <b>Tavuk karkas</b>              | İlkbahar        | 100                    | 4 (4)   | 12   | 0  |
|                                  | Yaz             | 100                    | 12 (12)   | 36   | 0  |
|                                  | Sonbahar        | 100                    | 12 (12)   | 34   | 0  |
|                                  | Kış             | 100                    | 9 (9)   | 27   | 0  |
| İstatistik Önem Kontrolü         |                 |                        | P>0.05  |  |  |
| <b>Yumurtacı tavuk dışkı</b>     | İlkbahar        | 100                    | 10 (10)   | 29   | 0  |
|                                  | Yaz             | 100                    | 9 (9)   | 26   | 0  |
|                                  | Sonbahar        | 100                    | 6 (6)   | 16   | 0  |
|                                  | Kış             | 100                    | 11 (11)   | 32   | 0  |
| İstatistik Önem Kontrolü         |                 |                        | P>0.05  |  |  |
| <b>Broiler dışkı</b>             | İlkbahar        | 100                    | 3 (3)   | 9  | 1  |
|                                  | Yaz             | 100                    | 9 (9)   | 27   | 1  |
|                                  | Sonbahar        | 100                    | 12 (12)   | 34   | 0  |
|                                  | Kış             | 100                    | 8 (8)   | 24   | 0  |
| İstatistik Önem Kontrolü         |                 |                        | P>0.05  |  |  |
| <b>Tavuk kesimhane örnekleri</b> | İlkbahar        | 20                     | 2 (10)  | 5  | 1  |
|                                  | Yaz             | 20                     | 6 (30)  | 16   | 2  |
|                                  | Sonbahar        | 20                     | 1 (5)   | 3  | 2  |
|                                  | Kış             | 20                     | 2 (10)  | 4  | 1  |
| İstatistik Önem Kontrolü         |                 |                        | P>0.05  |  |  |
| <b>Toplam</b>                    |                 | 1280                   | 116   | 334  | 8  |

2001-Temmuz 2002 döneminde Ankara'daki farklı marketlerden 8 aylık süreçte topladıkları 57 adet tavuk eti örneğinde, klasik kültürel yöntem kullanıldığında 1 (% 1.8), IMS yöntemi kullanıldığında ise 2 (% 3.5) örnekte *E.coli* O157 saptamışlardır. Ünsal (22), Temmuz-Aralık 2006 tarihleri arasında Erzurum ili ve ilçelerinde çeşitli kasap ve marketlerden temin edilen, 120 sığır, 105 tavuk ve 105 hindi eti numunesinde *E.coli* O157:H7 varlığına ilişkin yürüttüğü çalışmada, 105 tavuk eti numunesinin 3'ünde (% 2,7) *E.coli* O157 bulunduğunu, bu izolatlardan 1'inin (% 0,9) *E.coli* O157:H7 olduğunu tespit etmiştir. Araştırmacı çalışmada identifikasyon için klasik kültürel yöntem kullanmıştır. Sekmen ve Kaya (19) İzmir, Manisa, Aydın, Denizli ve Uşak illerindeki broiler kümeslerinden aldıkları kloakal svap örneklerinde *E.coli* O157:H7 varlığını konvansiyonel kültür metodu ile araştırmışlar ve 500 adet kloakal svap örneğinin 32 (% 6.40)'sinden *E.coli* O157:H7 serotipi tanımlanmıştır. Kalın ve ark.

(10), Elazığ'da yürüttükleri çalışmada 1000 broiler barsak içeriği, 1000 broiler karaciğeri, 1000 karkas svap ve 367 ishali insan dışkı örneğinden *E.coli* O157 serotipinin izolasyonuna ilişkin yürüttükleri çalışmada iç organlardan %0.1, barsak içeriğinden %0.4, insan ishal olgularından %2.7 oranında bu bakteriyi izole ettiklerini ancak tavuk karkaslarından herhangi bir izolasyon yapılamadığını bildirmişlerdir. Bu araştırmacı izole ettikleri *E.coli* O157 serotipinin identifikasyonunu PCR ile doğrulamıştır. Yine yurdumuzda Baran ve Gülmez (2) Kars ilinde marketlerden satın alınan 50 tavuk eti örneğini *E.coli* O157:H7 yönünden incelemişler ve tüm örneklerin bu etken yönünden negatif olduğunu bildirmişlerdir. Akkaya ve ark. (1), Afyon ilinde marketlerden toplamış oldukları 190 tavuk eti örneğinin 2 (%1.05)'sinde *E.coli* O157:H7 izole ettiklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılar; kanatlı karkaslarında bu etkenin varlığını, kanatlıların etkenin doğal taşıyıcısı olabileceğine veya kesim prosesi

sırasında kullanılan su ve/veya transport gibi diğer kaynaklardan olabileceğine bağlamışlardır. Raji ve ark. (17), Tanzania'da tavuk kesimhanesinden aldıkları 120 adet tavuk barsak içeriğinde *E.coli* O157'nin varlığını araştırmışlar ve 11 (%9.6) örneği bu etken yönünden pozitif saptamışlardır. Heuvelink ve ark. (8), inceledikleri 501 adet yumurtacı tavuklara ait dışkı örneğini, *E.coli* O157 yönünden negatif bulmuşlardır.

Kore'de Jo ve ark. (9) tarafından yapılan bir çalışmada da 418 tavuk dışkısı ve 52 tavuk eti *E.coli* O157 yönünden negatif bulunmuştur. Doyle ve Schoeni (7), inceledikleri 263 kanatlı eti örneğinin 4(%1.5)'ünü *E.coli* O157:H7 yönünden pozitif bulmuşlardır. Tabatabaei ve ark. (21), İran'da 28 broiler işletmesinden aldıkları 350 dışkı örneğinin 14(%4)'ünden shiga toxigenic *E.coli* (STEC) izole etmişlerdir. Araştırmacılar çalışmalarında bu izolasyonun İran'da ilk kez rapor edildiğini ve bu etkenlerin kümes ve kanatlı kesimhanelerinde çalışanlar için önemli olduğunu vurgulamışlardır. Kanatlı hayvanlar ve ürünlerinin bu mikroorganizmayı taşıyıcılıkları ile ilgili literatürler incelendiğinde eldeki bilgiler anılan kaynakların bu etken için çok güçlü bir rezervuar olmadıklarını göstermektedir. Yine *E.coli* O157'nin çeşitli materyallerden ön zenginleştirme ile izolasyonu ve daha sonra identifikasyonda sadece fenotipik testler ile sonuca gidilmesi ve moleküler analizden yararlanılmamış olması sonuçların göreceli olarak yorumlanmasına da sebep olmaktadır.

Yurdumuzda yürütülen 2 çalışmada (19, 22) bu durum söz konusu olup bu çalışmalarda moleküler yöntemle identifikasyon yoluna gidilmemiştir. Bunun yanında Chapman ve ark. (6) ve Shepherd ve ark. (20) Amerika Birleşik Devletleri'nde yürüttükleri çalışmalarda da kanatlı işletmelerinden toplanan dışkı örneklerinde *E.coli* O157:H7'yi bulamadıklarını rapor etmişlerdir.

Elde edilen sonuçlar Kayseri yöresinde kanatlı hayvanların ve bunlara ait et örneklerinin *E.coli* O157 serotipini taşımadıklarını göstermekle beraber değişik lokalizasyonlarda daha fazla sayıda kanatlı orijinli örneğin bu bakteri yönünden incelenmesinin ve yapılacak çalışmalarda *E.coli* O157 serotipinin identifikasyonunun moleküler yöntemlerle desteklenmesinin yararlı olacağını göstermektedir.

## Kaynaklar

1. Akkaya L, Atabay HI, Kenar B, Alisarlı M. Prevalence of verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157:H7 on chicken carcasses sold in Turkey. Bull Vet Inst Pulawy 2006; 50: 513-6.
2. Baran F, Gülmez M. The occurrence of *Escherichia coli* O157:H7 in the ground beef and chicken drum sticks. Internet J Food Safety 2003; 2: 13-5.
3. Bessa LJ, Fazii P, Di Giulio M, Cellini L. Bacterial isolates from infected wounds and their antibiotic susceptibility pattern: some remarks about wound infection. Int Wound J 2013; doi: 10.1111/iwj.12049.
4. Burvenich C, Van Merris V, Mehrzad J, Diez-Fraile A, Duchateau L. Severity of *E.coli* mastitis is mainly determined by cow factors. Vet Res 2003; 34(5): 521-64.
5. Caprioli A, Morabito S., Brugere H, Oswald E. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. Vet Res 2005; 36(3): 289-311.
6. Chapman PA, Siddons CA, Gerdan Malo AT, Harkin MA. 1-year study of *Escherichia coli* O157 in cattle, sheep, pigs and poultry. Epidemiol Infect 1997; 119(2): 245-50.
7. Doyle MP, Schoeni JL. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from retail fresh meats and poultry. Appl Environ Microbiol 1987; 53(10): 2394-6.
8. Heuvelink AE, Zwartkruis-Nahuis JT, Van den Biggelaar FL, Van Leeuwen WJ, de Boer E. Isolation and characterization of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 from slaughter pigs and poultry. Int J Food Microbiol 1999; 52 (1-2): 67-75.
9. Jo MY, Kim JH, Lim JH, Kang MY, Koh HB, Park YH, Yoon DY, Chae JS, Eo SK, Lee JH. Prevalence and characteristics of *Escherichia coli* O157 from major food animals in Korea. Int J Food Microbiol. 2004; 95(1): 41-9.
10. Kalin R, Öngör H, Çetinkaya B. Isolation and molecular characterization of *Escherichia coli* O157 from broiler and human samples. Foodborne Paht Dis 2012; 9(4): 313-8.
11. Kiranmayi CB, Krishnaiah N, Naga Mallika E. *Escherichia coli* O157:H7 - An Emerging pathogen in foods of animal origin. Vet World 2010; 3(8): 382-9.
12. Lim JY, Yoon J, Hovde CJ. A brief overview of *Escherichia coli* O157:H7 and its plasmid O157. J Microbiol Biotechnol 2010; 20(1): 5-14.
13. Maurer JJ, Schmidt D, Petrosko P, Sanchez S, Bolton L, Lee MD. Development of primers to O-antigen biosynthesis genes for specific detection of *Escherichia coli* O157 by PCR. Appl Environ Microbiol 1999; 65(7): 2954-60.
14. Mercanoğlu B, Aytaç SA. Ankara piyasasında satışa sunulan tavuk etlerinde *Yersinia enterocolitica* ve *Escherichia coli* O157 varlığının araştırılması. Türkiye 9. Gıda Kongresi. Mayıs, 24-26, 2006; Bolu-Türkiye.

15. Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic Escherichia coli. Clin Microbiol Rev 1998; 11(1): 142-201.
16. Quinn PJ, Carter ME, Markey B, Carter GR. Enterobacteriaceae. Quinn PJ, Carter ME, Markey B, Carter GR. eds. In: Clinical Veterinary Microbiology. London: Mosby Ltd., 2002; pp. 209-36.
17. Raji MA, Minga UM, Machang'u RS. Prevalence and characterization of verotoxigenic Escherichia coli O157 isolated from local chicken in Morogoro, Tanzania. J Anim Vet Advan 2006; 5(11): 952-8.
18. Riley LW, Remis RS, Helgerson SD, Mcgee HB, Wells JG, Davis BR. Hemorrhagic colitis associated with a rare Escherichia coli serotype. N Engl J Med 1983; 308(12): 681-5.
19. Sekmen SGD, Kaya O. Broiler piliçlerden Escherichia coli O157:H7 serotipinin identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi. Pendik Vet Mikrobiyol Derg 2010; 37(1): 19-31.
20. Shepherd JR, Liang P, Jiang X, Doyle MP, Erickson MC. Microbiological analysis of composts produced on South Carolina poultry farms. J Appl Microbiol 2010; 108(6): 2067-76.
21. Tabatabaei M, Mekarizade A, Foad-Marashi N. Detection and molecular characterization of sorbitol negative shiga toxigenic Escherichia coli in chicken from northwest of Iran. Vet Res Forum 2011; 2(3): 183-8.
22. Ünsal C. Erzurum Bölgesinde Satışa Sunulan Etlerde E.coli O157:H7'nin Varlığının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Programı, Erzurum-Türkiye, 2007.
23. Varela-Hernández JJ, Cabrera-Diaz E, Cardona-López MA, Ibarra-Velázquez LM, Rangel-Villalobos H, Castillo A, Torres-Vitela MR, Ramírez-Álvarez A. Isolation and characterization of Shiga toxin-producing Escherichia coli O157:H7 and non-O157 from beef carcasses at a slaughter plant in Mexico. Int J Food Microbiol 2007; 113(2): 237-41.
24. Wasteson Y. Zoonotic Escherichia coli. Acta Vet Scand 2001; 95: 79-84.
25. Welinder-Olsson C, Kaijser B. Enterohemorrhagic Escherichia coli (EHEC) Scand J Infect Dis 2005; 37(6-7): 405-16.

### Teşekkür

Bu araştırma, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TSA-09-883 nolu proje ile desteklenmiştir.

### Yazışma Adresi:

Yrd. Doç. Dr. Seçil ABAY  
Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı  
38039 Melikgazi/KAYSERİ  
**E-posta:** sabay@erciyes.edu.tr  
Tel: 0 352 207 66 66



## Halk Elinde Yetiştirilen Holştayn, Doğu Anadolu Kırmızısı ve Yerli Kara Sığır Irklarında Diacylglycerol O-Acyltransferase 1 (DGAT1) Gen Polimorfizminin PCR-RFLP Yöntemi ile Belirlenmesi\*

Onur BAL<sup>1</sup>, Bilal AKYÜZ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Melikgazi, Kayseri-TÜRKİYE

<sup>2</sup> Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Genetik ABD, Kocasinan, Kayseri-TÜRKİYE

**Özet:** Bu çalışmada, 100 baş Holştayn, 50 baş Doğu Anadolu Kırmızısı ve 50 baş Yerli Kara sığırında DGAT1 geninin allel yapısının RFLP yöntemi ile belirlenmesi amaçlanmıştır. DGAT1 allellerinin belirlenmesinde, elde edilen PCR ürünleri *Cf1* endonükleaz enzimi ile kesilmiştir. Kesim sonunda, KK genotipindeki bireylerde 411 bp'lik tek bant; KA genotipindeki bireylerde 411, 208 ve 203 bp'lik üç bant; AA genotipindeki bireylerde ise 208 ve 203 bp'lik iki bant gözlenmiştir. DGAT1 geni için incelenen ırklarda en yüksek AA genotip frekansı Holştayn ırkında, en yüksek KK genotip frekansı Yerli Kara ırkında ve en yüksek KA genotip frekansı yine Yerli Kara ırkında görülmüştür. İncelenen ırklardan Holştayn ve Doğu Anadolu Kırmızısı ırklarında A allelinin frekansı K allele göre yüksek bulunmuştur. Ancak Yerli Kara ırkında K allelinin frekansı diğer ırklardan yüksek bulunmuştur. Çalışma sonunda incelenen ırkların DGAT1 lokusu yönünden HW dengesinden sapma görülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** DGAT1, genetik belirteç, RFLP, sığır

### Detection of Diacylglycerol O-Acyltransferase 1 (DGAT1) Gene Polymorphism by PCR-RFLP Method in East Anatolian Red and Native Black Cattle Breeds at Villages

**Summary:** The purpose of this work was to examine the allele structures of DGAT1 gene by RFLP method in 100 head of Holstein, 50 head East Anatolian Red and 50 head Anatolian Black cattle breeds. In order to determine the DGAT1 alleles, the products obtained from PCR were digested with *Cf1* endonuclease enzyme. After digestion, a 411 bp single band in KK genotype; three bands (411, 208 and 203 bp) in KA genotype and two bands (208 and 203 bp) in AA genotype were observed. The AA genotypic frequency was found the highest in the Holstein breed; the KK genotypic frequency was found the highest in the Anatolian Black breed and the KA genotypic frequency was found the highest likewise in the Anatolian Black breed in DGAT1 gene. In this study, the A allele frequency was found higher than the K frequency allele in Holstein and East Anatolian Red cattle breeds. But, the K allele frequency was found higher than the A allele in only the Anatolian Black breed. It was found that HW equilibrium was not in DGAT1 locus in all three breeds examined.

**Key Words:** Cattle, DGAT1, genetic marker, RFLP

### Giriş

Damızlık adaylarının gelecekteki verimlerinin doğru tahmin edilebilmesi, çiftlik hayvanları yetiştiriciliğindeki en önemli ve en karmaşık konulardan biridir. Tüm seleksiyon yöntemlerinde asıl amaç, damızlık adayının genetik değerini kolay ve yüksek bir doğrulukta tahmin edebilmektir (30). Jenerasyon aralığının uzunluğu nedeniyle, çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde mevcut konvansiyonel seleksiyon yöntemleri ile hızlı bir genetik ilerleme sağlayabilmek zordur. Çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde, jenerasyon aralığını kısaltmak ve damızlık seçiminde başarı oranını artırmak zooteknik biliminin önemli bir uğraş alanıdır. Araştırmacılar klasik yetiştirme yöntemleri

ile genotipik verileri birlikte kullanılarak daha doğru damızlık seçimi üzerine yoğunlaşmışlardır. Doksanlı yıllara kadar protein polimorfizmi ve verimler arasında ilişki kurulup kurulamayacağı konusunda çalışmalar yapılmıştır. Bu amaçla süt protein polimorfizmi, kan grupları ve kan protein polimorfizmleri ile sığırlarda süt verimi (29), atlarda yarış performansı (17, 24) arasında ilişkiler araştırılmıştır. Ancak protein polimorfizmi çalışmalarında genetik yapı ve verim arasında ilişkili olabilecek diacylglycerol o-acyltransferase 1 (DGAT1), leptin, büyüme hormonu (GH) veya prolaktin hormonu (PRL) gibi genlerin kodladığı proteinler kolayca izole edilemediği için verimlerle ilişkileri araştırılmamıştır. Damızlıkların yüksek doğrulukta seçilebilmesinde genetik yöntemlerin kullanılması yönelik çalışmalar özellikle 1980'li yılların başında geliştirilen Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) gibi moleküler genetik yöntemler yeni bakış açıları sunmuştur. Geliştirilen bu yöntemler polimorfizmlerin nükleik asit seviyesinde belirlenmesine olanak vermiştir.

Moleküler genetik yöntemlerin çiftlik hayvanları

Geliş Tarihi / Submission Date : 13.05.2013

Kabul Tarihi / Accepted Date : 26.08.2013

\*TSY-11-3731 Proje Koduyla Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Tarafından Desteklenen "Halk Elinde Yetiştirilen Holştayn, Doğu Anadolu Kırmızısı ve Yerli Kara Sığır Irklarında Diacylglycerol O-Acyltransferase 1 (DGAT1) Gen Polimorfizminin PCR-RFLP Yöntemi ile Belirlenmesi" Adlı Yüksek Lisans Tezinden Özetlenmiştir.

yetiştiriciliğinde kullanılmaya başlanması, bazı kantitatif özellik lokuslarının (Quantitative Trait Loci, QTL) düzenleyici ve yapısal bölgelerindeki veya bu genlerin komşu dizinlerindeki varyasyonlar ile sığırlarda süt verimi, süt proteini ve süt yağı miktarı ile sütün işlenmesi sonucu elde edilen ürünlerin miktarları arasında ilişki olabileceği ve bu genlerin damızlık seçiminde belirteç (marker) gen olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (6, 10, 21, 30).

Bireyin verimi ile ilişkili olduğu düşünülen belirteç genlerin keşfedilmesi, Marker Destekli Seleksiyon (Marker Assisted Selection, MAS) olarak adlandırılan moleküler ıslah yöntemlerinin geliştirilmesine katkı sağlamıştır. MAS yardımıyla ıslah edilmesi istenilen ırkta elde edilmesi hedeflenen genetik ilerleme, klasik seleksiyon yöntemlerine göre çok daha hızlı olabilecektir (21). Diğer yandan istenilen belirteç allele sahip bireylerin seçim ile damızlık seçiminde yüksek doğruluk ve isabet sağlanabilecektir (34). Özellikle sığır yetiştiriciliğinde MAS ile birlikte suni tohumlama, embriyo transferi ve invitro fertilizasyon gibi yardımcı üreme tekniklerinin yaygınlaşması, yöntemin güvenilirliğini dolayısıyla yaygınlığı artıracaktır. MAS'ın yaygınlaşması, klasik ıslah çalışmalarında kullanılacak hayvan sayısını, işçiliği, bakım maliyetini ve süreyi azaltacağı gibi maliyeti de düşüreceği için işletmelerin ekstra kazanç sağlamasına olanak verecektir.

MAS yönteminde, farklı belirteç genleri kullanılarak yapılacak seleksiyon sonucunda daha hızlı bir genetik ilerleme sağlamak ve birim hayvandan elde edilmesi beklenen verim düzeyini artırmak hedeflenmektedir (30). Bu yöntem ile çiftlik hayvanlarında elde edilecek genetik ilerleme hızının %15-30 oranında artırabileceği bildirilmiştir (16, 19). Bishop ve ark. (3) MAS ile suni tohumlama ve embriyo nakli gibi yöntemlerin birlikte kullanılmasının sığırlarda jenerasyon aralığını 69 aydan 45 aya düşürebileceğini bildirmişlerdir.

Çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde, moleküler belirteçlerdeki polimorfizmler ile farklı verim özellikleri arasındaki ilişkilerin araştırıldığı çalışmalar da artık önem kazanmaya başlamıştır (6). Yapılan çalışmalar sonunda, son yıllarda bazı genler ve bu genlerin allelik yapıları ile süt verimi arasında ilişki olduğu belirlenmiş ve bu genlerin süt verimi için genetik belirteç olarak kullanılma potansiyeline sahip oldukları bildirilmiştir (1, 2, 5, 10).

Diğer taraftan fenotipik özellikler ve belirteç genlerdeki polimorfizimler ırkların karakterizasyonunda da kullanılmaktadır (9). Ayrıca genetik seçim ve farklı ırklar arasındaki evrimsel ilişkilerin açıklanmasında da aday genlerdeki genetik polimorfizimler önemli bir araştırma konusu olmuştur (27). Fakat, Türkiye'de dahil olmak üzere gelişmekte olan ülkelerde, yerli

sığır ırkları ile diğer ırkların karşılaştırılabilmesine olanak veren bilgiler (gen frekansları, gen çeşitliliği ve ırklar arasındaki farklılıkların belirlenmesi) ve kültür ırklarındaki verimler ile genetik belirteçlerin etkileri hakkında yapılan çalışmalar yetersizdir. Son yıllarda, sığırlarda genetik belirteç olarak seçilen aday genler ve bireylerin verim özellikleri arasındaki ilişkilerin belirlenmesi üzerine yapılan çalışmalar artmıştır (16).

Tüm dünyadaki süt sığırı yetiştiriciliğinde yapılan seleksiyon çalışmalarında genel olarak süt verimi, süt komponentleri ve süt teknolojisi konuları üzerine odaklanılmaktadır (5). Süt verimi çevre faktörlerinden etkilenen ve çok sayıda genetik lokus tarafından kontrol edilen tipik poligenik bir karakterdir. Son yıllarda süt protein polimorfizmi ile süt verimini etkileyen fizyolojik ve biyokimyasal özellikler arasındaki ilişkide rolü olduğu bilinen bazı genler belirlenmiştir. Bu genlerde bulunan allelik varyasyonların sütün kompozisyonunu, kalitesini ve elde edilen sütteki bireysel farklılıkları etkileyebileceği bildirilmiştir (1). Büyüme hormonu ve prolaktin hormonu gibi bazı hormonlar ile kappa kazein ( $\kappa$ -CN) gibi süt proteinlerinin allelik yapıları ile süt verimi, süt komponentleri ve süt ürünlerinin elde edilmesi gibi özellikler arasında ilişki olduğu belirlenmiştir (4, 13). Bu nedenle  $\kappa$ -CN, GH ve PRL genlerinin allelik yapılarının sığırlarda damızlık adaylarında laktasyon performansını tahminde aday gen olarak kullanılabileceği düşünülmektedir (13).

Bu belirteç genlerden birisi de DGAT1 genidir. Bu gen, yüksek yapılı ökaryotlarda, yağların bağırsaklarda emilimi, lipoprotein yapıların üretimi, adipoz doku yapımı ve laktasyon döneminde bulunan sığırlarda triaçilgliserol metabolizmasında görev alan acyl-CoA enzimini kodlamaktadır (20). DGAT1 geni, sığır (*Bos taurus*) karyotipinin 14. kromozomunun (BTA 14) sentromerik bölgesinde 3 cM'luk bir mesafede bulunmaktadır (26). Bu genin sığırlarda süt verimini etkileyebilme potansiyeline sahip olduğu bildirilmiştir (8, 35). Yağların esas bileşeni olan trigliseridler yağların uzun zincirine diaçilgliserol bağlanmasıyla oluşmaktadır. Bu reaksiyon bilinen en az iki enzim tarafından katalize edilir.

Bu enzimlerden biri diacylglycerol acyltransferase 1 enzimidir ve DGAT1 geni tarafından kodlanır (31). Diğer taraftan, DGAT1 geninin sığırlarda süt verimi ve süt kompozisyonu üzerine etkisinin olduğuda bildirilmiştir (18, 23). DGAT1 geninin 8. ekzon bölgesinde 10433 ve 10434 pozisyonunda meydana gelen bir nokta mutasyonu, genin kodladığı proteinin 232. amino asidi olan lizin, alanine dönüşmesine (DGAT1 K232A) neden olan bir polimorfizmin varlığı belirlenmiştir (15). Alanin amino asidini kodlayan gen (A alleli) diziliminin sadece gerçek sığırlarda (*Bos taurus*) görüldüğü, lizin amino asidini kodlayan gen diziliminin ise (K alleli) ilkel sığırlarda görüldüğü bildirilmiştir (33).

Bu baz değişimi *CfrI* restriksiyon enzimi kullanılarak yapılan Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Restriksiyon Parçacık Büyüklük Polimorfizmi (PCR-RFLP) yöntemi ile kolayca belirlenebilmektedir. Holştayn ırkında, DGAT1 geninde A allelinin düşük süt yağı ve yüksek süt protein içeriği; yüksek süt verimi ve düşük kas içi yağlanma ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (31, 32). Protein ve süt verimindeki önemli derecede azalma ile yağ verimindeki artış lizin varyantı (K alleli) ile; alanin varyantı (A alleli) süt ve protein veriminde artış, yağ verimindeki azalma ile ilişkili bulunmuştur (11, 31). Bu çalışmada Türkiye'de yetiştirilen yerli sığır ırklarından Doğu Anadolu Kırmızısı, Yerli Kara ve kültür ırklarından Holştayn ırkına ait örneklerde, DGAT1 geninin allelik yapısının araştırılması amaçlanmıştır.

### Gereç ve Yöntem

Çalışmanın hayvan materyalini 100 baş Holştayn, 50 baş Doğu Anadolu Kırmızısı ve 50 baş Yerli Kara ırkı sığırlardan, dişi ve erkek toplam 200 baş hayvan oluşturmuştur. Çalışmada kullanılacak hayvanların ırkın saf örneklerinden olmasına dikkat edilmiştir. Doğu Anadolu Kırmızısı ve Yerli Kara ırklarına ait örnekler, ait oldukları ırka özgü fenotipik özelliklerini göstermeleri ve ırkın yetiştirildiği bölgelerden toplanmalarına dikkat edilmiştir. Holştayn ırkına ait örnekler ise Damızlık Sığır Yetiştiriciler Birliğine kayıtlı bireylerden seçilmiştir. Çalışmada kullanılan ırklara ait bireylerin Vena jugularislerinden alınan kan örneklerinden fenol-kloroform ekstraksiyon yöntemi (25) ile DNA izolasyonları yapılmıştır.

İncelenen hayvanlarda DGAT1 allellerini belirlemek için yapılacak polimeraz zincir reaksiyonunda forward: 5'- GCA CCA TCC TCT TCC TCAA G -3'; reverse: 5'- GGA AGC GCT TTC GGA TG -3' olacak şekilde bir primer seti (31) kullanılmıştır. PCR karışımı; 0.1 µl Taq polimeraz (5 U/µl), 50 µM dNTP, 0.2 µM primer, 6 µl MgCl<sub>2</sub>, 100 ng/µl yoğunluğundaki stok DNA'lardan 3 µl karışım dH<sub>2</sub>O ile 25 µl'ye tamamlandı. Toplam hacmin %10'u oranında DMSO eklenerek hazırlanmıştır. PCR cihazı 95 °C'de 5 dk başlangıç denatürasyonundan sonra her bir döngüsü; 94 °C'de 60 sn, 60 °C'de 60 sn ve 72 °C'de 60 sn olacak şekilde 35 döngü ve son döngüyü takiben 72 °C'de 10 dk şeklinde programlanmıştır.

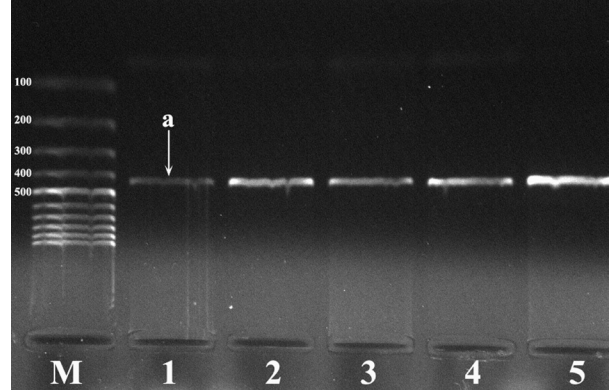
Kesim işlemi için bir tüpe 5 µl PCR ürünü 9 µl dH<sub>2</sub>O, 1.5 µl enzim tampon solüsyonu ve 0.5 µl *CfrI* endonükleaz enzimi eklenmiştir. Hazırlanan karışım 37 °C'lik etüvde 4.5 saat bekletildikten sonra restriksiyon enzimini inaktive etmek amacıyla karışım 65 °C'de 20 dk tutularak kesim işlemi sonlandırılmıştır.

İncelenen örnekler için DGAT1 geninin allel frekansları sayım yolu ile elde edilmiştir. İncelenen ırkların DGAT1 geni yönünden genetik denge testi Ki-kare ile yapılmıştır.

### Bulgular

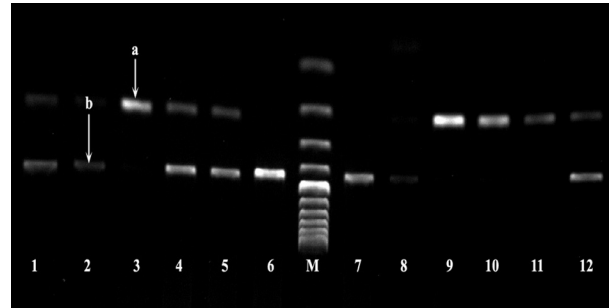
PCR sonunda %2'lik agaroz jel elektroforezlerinde 411 bp'lik tek bant görülmüştür (Resim 1).

**Resim 1.** 1-5: PCR ürünleri (a: 411 bp'lik bant), M: 100 bp'lik DNA merdiveni



Elde edilen 411 bp'lik PCR ürünlerinin *CfrI* restriksiyon endonükleaz ile kesilmesi sonunda yapılan %4'lük agaroz jel elektroforezinde KK genotipindeki bireylerde 411 bp'lik tek bant, KA genotipindeki bireylerde 411, 208 ve 203 bp'lik üç bant, AA genotipindeki bireylerde ise 208 ve 203 bp'lik iki bant gözlenmiştir (Resim 2).

**Resim 2.** 1, 2, 4, 5, 12; KA genotipindeki bireyler: 3,9-11; AA genotipindeki bireyler: 6-8; KK genotipindeki bireyler: M; 100 bp'lik DNA merdiveni (a; 208 ve 203 bp'lik bantlar; b; 410 bp'lik bant)



DGAT1 geni için incelenen örnekler için PCR ürünlerinin *CfrI* endonükleaz enzimi kesimi sonucunda elde edilen bantlara göre en yüksek AA ve KK genotip frekansı Holştayn ırkında, en yüksek KA genotip frekansı ise Yerli Kara ırkında bulunmuştur. İncelenen ırklara ait örneklerde A allelinin frekansı Holştayn ve Doğu Anadolu Kırmızısı ırklarında; K allelinin frekansı ise Yerli Kara ırkından yüksek bulunmuştur. İncelenen ırklara ait genotip ve allel frekansları Tablo 1'de verilmiştir. Bu çalışmada, DGAT1 gen allel frekanslarının Ki-kare test sonuçları incelendiğinde Doğu Anadolu Kırmızısı ırkına ait örneklerin 0.005; Yerli Kara ve Holştayn ırkına ait örneklerin ise 0.001 düzeyinde istatistik olarak önemli oldukları belirlenmiştir.

**Tablo 1.** DGAT1 geni yönünden incelenen ırklara ait Ki-kare analizleri, genotip ve allele frekansları

| İrk | N   | Genotip Frekansı |      |           |      |           |      | Allel Frekansı |        | X <sup>2</sup><br>(HW) | P       |
|-----|-----|------------------|------|-----------|------|-----------|------|----------------|--------|------------------------|---------|
|     |     | AA               |      | KK        |      | KA        |      | A              | K      |                        |         |
|     |     | Göz (Bek)        | F    | Göz (Bek) | F    | Göz (Bek) | F    |                |        |                        |         |
| HL  | 100 | 63(56.16)        | 0.63 | 13(6.16)  | 0.13 | 24(37.69) | 0.24 | 0.7500         | 0.2500 | 13.401                 | P<0.001 |
| YK  | 50  | 7(11.88)         | 0.14 | 8(12.88)  | 0.16 | 35(25.24) | 0.70 | 0.4900         | 0.5100 | 7.628                  | P<0.001 |
| DAK | 50  | 15(19.10)        | 0.30 | 3(7.10)   | 0.06 | 32(23.80) | 0.64 | 0.6200         | 0.3800 | 6.073                  | P<0.005 |

Göz: Gözlenen genotip; Bek: Beklenen genotip; F: Frekans; HL: Holştayn; YK: Yerli Kara; DAK: Doğu Anadolu Kırmızısı; HW: Hardy-Weinberg dengesi

### Tartışma ve Sonuç

Sığır yetiştiriciliğinde uygulanan seleksiyon programları öncelikli olarak süt ve et verim özelliklerinin ıslahı göz önünde tutularak yapılmıştır. Ortaya çıkmasında aditif genlerin rol oynadığı kantitatif karakterler yönünden bireylerin fenotipik değerleri çoğunlukla genotipik değerlerini doğru olarak yansıtmamaktadır. Dolayısıyla, kantitatif özellikleri iyileştirmek amacıyla yapılacak seleksiyon çalışmalarında bireylerin fenotipik değerlerinin göz önünde tutulması seleksiyonun etkinliğini ve başarısını düşürebilmektedir. Bu nedenle, ıslahı düşünülen karakter yönünden damızlıkların genotipik değerlerinin tahmin edilmesi, ıslahın başarısı için büyük önem taşımaktadır. Jenerasyon aralığının uzun olması sığır, koyun ve keçi gibi çiftlik hayvanlarında kullanılan mevcut ıslah yöntemlerinin başarısı ve etkinliği için önemli bir problemdir. Ayrıca bu türlerde başarı, dikkatli çalışmayı ve düzenli kayıt tutmayı zorunlu kılan uzun bir çalışma süresini gerektirmektedir. Bu problemler, ıslah çalışmalarının etkinliğinin artırılması ve hedeflenen başarıya ulaşmak için yeni yöntemlerin geliştirilmesi ihtiyacını doğurmuştur. Özellikle son yıllarda moleküler genetik alanında elde edilen ilerlemeler, verimle ilişkili olduğu düşünülen lokusların belirlenmesine, varyasyonların tanımlanmasına ve bu varyasyonlarla verim özellikleri arasındaki ilişkilerin incelenmesine olanak sağlamaktadır.

Belirli genlerde görülen varyasyonlar ile verimler arasındaki ilişkilerin araştırılmasında öncelikle fenotiple ilişkisi olduğu düşünülen genler yönünden eldeki hayvan varlığının genetik karakterizasyonun yapılması önemlidir.

Sığırlarda DGAT1 polimorfizmi ilk olarak Spelman ve ark. (28) tarafından belirlenmiştir. Daha sonra Winter ve ark. (35) inceledikleri 16 farklı sığır ırkında K frekansının 0.10 ile 1.00 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. En düşük K allel frekansını (0.1) Alman Fleckvieh ırkında, en yüksek K allel frekansının (1.0) ise manda (Bubalus bubalus) da olduğunu bildirmişlerdir (35).

Thaller ve ark. (31) tarafından Alman sığır ırklarında

DGAT1 allel polimorfizmi ile süt verimi arasındaki ilişkinin incelendiği bir başka çalışmada, K allel frekansı Fleckvieh sığırlarında 0.072, Holştayn ırkında ise 0.548 olarak bulunmuştur. Yüksek süt yağı verimi nedeniyle Almanya'da en çok tercih edilen ırk olan Fleckvieh sığırında K allel frekansının beklenmedik bir şekilde çok düşük olduğu görülmüştür. Diğer taraftan yüksek süt verimi ile karakterize olan Alman Holştayn'larında K allelinin frekansı yüksek bulunmuştur. Bunun nedeninin, çalışmanın yapıldığı zamana kadar Almanya'da Fleckvieh ırkında yüksek süt verimi, Holştayn ırkında ise yüksek süt yağı verimi yönünden yapılan seleksiyon çalışmaları olabileceği düşünülmüştür.

Sanders ve ark. (26) tarafından Almanya'da yetiştirilen Angeln ırkı sığırlarda K allel frekansının diğer Avrupa sığır ırklarına göre oldukça yüksek (0.61) olduğunu bildirilmiştir. Bunun sebebinin de, Angeln ırkında süt kompozisyonu yönünden yapılan seleksiyon çalışmalarının olabileceği ifade edilmiştir.

Lacorte ve ark. (15) tarafından Brezilya'da yetiştirilen dört farklı zebu ırkında K allelinin frekansının 0.96 ile 1 arasında değiştiğini, yine bu ülkede yetiştirilen saf Holştayn'larda K allel frekansının 0.27 olduğu ve Gyr (bir zebu ırkı) x Holştayn melezlerinde de K allel frekansının 0.27 olduğunu belirlemişlerdir.

Avrupa orijinli sütçü sığır ırklarından Jersey ırkında DGAT1 geninin K allelinin frekansı 0.69 ile 0.88 arasında değiştiği bildirilmiştir. Diğer Avrupa ırklarına göre Jersey ırkında K allelinin frekansı oldukça yüksek bulunmuştur (11, 20, 28, 35). Yapılan bir başka çalışmada, K alleli etçi sığır ırklarında yüksekten sütçü ırklarda çok düşük ile çok yüksek seviye arasında değiştiği bildirilmektedir (11).

Uruguay'da yetiştirilen Creole, Holştayn ve Creole x Holştayn melezlerinde DGAT1-A allel frekansının K allelinden yüksek olduğu bildirilmiştir (33). Saf Creole sığır ırkına ait 23 boğa, 447 inek ve her iki cinsiyetten 105 buzağıda DGAT1-A allel frekansının (0.8964) K allelinden (0.11) yüksek olduğu bildirilmiştir. Çalışma sonunda, melez bir sığır ırkı olan Creole ırkının



geliştirilmesinde hangi ırkın daha çok etkisi olduğunun belirlenmesinde de DGAT1 geninin yardımcı olabileceği sonucuna varılmıştır (22).

Polonya'da yetiştirilen Holştayn damızlık boğa adaylarında DGAT1-K allel frekansının damızlık boğalardan daha yüksek olduğu görülmüştür. Aynı çalışmada Holştayn ırkı ineklerde her iki allelin hemen hemen eşit olduğu bildirilmiştir (20). Bu araştırmacılar, Polonya'da yetiştirilen Holştayn'larda DGAT1-K allelinin A alleleline göre daha düşük frekansta olduğu, bu durumun ise diğer Avrupa ülkelerinde yetiştirilen Holştayn popülasyonlarından farklı, ancak Amerikan Holştayn'ları ile benzer olduğunu bildirmişlerdir. Bunun sebebinin Polonya'daki mevcut Holştayn varlığının %90 oranında Amerikan Holştayn sığırlarından genetik olarak etkilenmesinden kaynaklanmış olabileceğini bildirilmişlerdir Amerika ve Avrupa orijinli Holştayn'larda DGAT1 geninin allel frekansları farklılık göstermektedir (20). Amerika orijinli Holştayn sığırlarında K allel frekansı Avrupa orijinlilere göre daha yüksektir. Diğer taraftan Alman Holştayn sığırları yüksek A allel frekansına sahiptirler (32, 33). Türkiye'de yetiştirilen Holştayn ırkına ait 100 baş örneğin DGAT1 geninin allelik yapısının incelendiği bu çalışmada da A allel frekansının K allelinden oldukça yüksek olduğu görülmüştür. Bu durum her ne kadar son yıllarda gerek damızlık dişi ve gerekse sperm ithalatı ile ABD orijinli Holştayn genotipinde bir artış olmasına rağmen, hala Türkiye'de Avrupa orijinli Holştayn genotipinin yüksek olduğunun göstergesi olabilir.

Pareek ve ark. (21) tarafından yapılan çalışma sonunda, DGAT1 geni sadece incelenen popülasyonun süt verim özellikleri yönünden iyi bir belirteç gen olarak kullanması dışında, eldeki DNA havuzunu oluşturan sığır ırkları arasındaki genetik ilişkilerin araştırılmasında da kullanılabilirliğini bildirilmiştir. Benzer şekilde Fisher ve Spelman (7), Yeni Zelanda Holştayn popülasyonunda yaptıkları çalışma sonunda, DGAT1 gen polimorfizminin incelenen popülasyon içindeki genetik ilişkilerin araştırılmasına olanak verebileceğini bildirmişlerdir.

DGAT1 geninin süt verimi ve süt kompozisyonu üzerine etkisi olan bir kantitatif özellik lokusu (QTL) olduğu kabul edilmektedir. Bu genin A alleli ile düşük süt yağı, yüksek süt protein oranı yüksek süt verimi (8, 28, 35) ve düşük intramusküler yağ dağılımı (mermerleşme) (32, 33) üzerine etkisi olduğu bildirilmiştir.

Kaupe ve ark. (11) tarafından beş kıtadan 13 farklı ülkede yetiştirilen arasında Türkiye yerli sığır ırklarının da bulunduğu çalışmada, kullanılan ırkları süt yağı oranına göre dört gruba ayrılmış; 38 farklı gerçek sığır ve zebu (*Bos indicus*) ırkına ait toplam 1748 baş örnek üzerinde DGAT1 lokusunda K232A polimorfizminin incelendiği çalışmada; etçi sığır ırklarında A allel

frekansının, sütçü ırklarda ise K allelinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Yine bu çalışmada K allel frekansı incelenen 73 baş Yerli Kara ırkında 0.38; 50 baş Doğu Anadolu Kırmızısı ırkında ise 0.25 olarak gözlemlenmiştir.

Kepenek (12) 20 baş Yerli Kara ve 34 baş DAK ırklarında DGAT1-K allel frekansının en yüksek Yerli Kara (0.9211) ırkında, en düşük ise Doğu Anadolu Kırmızısı (0.7795) ırkında olduğunu gözlenmiştir. İncelenen ırklarda sadece KK ve KA genotipleri gözlenmiş, ancak Türkiye yerli sığır ırklarındaki K allel frekansının Avrupa ırklarından yüksek olduğu bildirilmiştir (12). Bu çalışmada DGAT1-K allelinin frekansı Yerli Kara (0.51) ve DAK (0.38) ırklarında orta düzeyde; ancak yine de Avrupa ırklarından yüksek bulunmuştur. Ayrıca, bu çalışmada da K allel frekansının Yerli Kara'da Doğu Anadolu Kırmızısı'ndan yüksek olduğu görülmüştür. Türkiye yerli sığır ırklarıyla yapılan çalışmalarda K ve A allel frekansları farklı bulunsun da, K allelinin frekansının Avrupa sütçü ırklarından daha yüksek olduğu görülmektedir.

Türkiye yerli sığır ırklarında süt verimini artırmaya yönelik sistematik bir seleksiyon yapılmamıştır. Fakat Anadolu'da erkek sığırların güçlü ve kuvvetli olanlarının çekim güçlerinden yararlanılmak üzere kısırlaştırılması nedeniyle negatif bir seleksiyon baskısına maruz kalmışlardır.

Diğer taraftan bu çalışmada incelenen Anadolu yerli ırklarında (Doğu Anadolu Kırmızısı ve Yerli Kara) K allelinin yüksek olması ancak A allelinde bulunması, bu ırkların hala varyasyonlarını devam ettirdiklerinin ve seleksiyon çalışmalarının yapılabileceğinin bir göstergesidir. Türkiye yerli sığır ırklarında süt verimi düşük ancak süt yağı oranları yüksektir. Bu bilgide yapılan çalışmada K allelinin yüksek olması bulgusu ile örtüşmektedir. Ancak bu projede incelenen ırklara ait örneklerde DAGT1 lokusu yönünden HW dengesinden ayrıldığı görülmüştür. Bu dengesizliğin sebebi inbreed yetiştirme, seleksiyon veya göçten kaynaklanmış olabilir. Ancak daha doğru sonuç için daha çok örnekle çalışılmalıdır.

Sığır yetiştiriciliğinde DGAT1 gen polimorfizminin seleksiyon çalışmalarında belirteçler olarak kullanılabilmesi yönünde yapılan çalışmalar bulunmaktadır (7, 14). Ancak DGAT1 genindeki varyantlarla, süt verim parametreleri arasında ilişkilerin daha kesin olarak belirlenebilmesi için daha çok çalışma yapılması gerekmektedir. Bu varyantlar, genetik çalışmalar ve yetiştiricilik alanlarında uygun test sistemlerinin geliştirilmesi için de kullanılabilir. Türkiye'de, incelenen lokus sayısının artırıldığı ve bu lokuslardan elde edilen sonuçların hayvanlara ait verim ve pedigrî kayıtları ile birleştirildiği daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

**Kaynaklar**

1. Alipanah M, Kalashnikova L, Rodionov G. Association of prolactin gene variants with milk production traits in Russian Red Pied cattle. *Iran J Biotech* 2007; 5(3): 158-61.
2. Bennewitz J, Reinsch N, Paul S, Looft C, Weimann C, Erhardt G, Thaller G, Kühn C, Schwerin M, Thomsen H, Reinhardt F, Reents R, Kalm E. The DGAT1 K232A mutation is not solely responsible for the milk production quantitative trait locus on the bovine chromosome 14. *J Dairy Sci* 2004; 87: 431-42.
3. Bishop MD, Hawkins GA, Keener CL. Use of DNA markers in animal selection. *Theriogenology* 1995; 43: 61-70.
4. Bobe G, Beitz DC, Freeman AE, Lindberg GL. Effect of milk protein genotypes on milk protein composition and its genetic parameter estimates. *J Dairy Sci* 1999; 82(12): 2797-804.
5. Dybus A. Associations between Leu/Val polymorphism of growth hormone gene and milk production traits in Black-and-White cattle. *Arch Tierz* 2002; 45(5): 421-8.
6. Dybus A, Grzesiak W, Szatkowska I, Błaszczyk P. Association between the growth hormone combined genotypes and dairy traits in Polish Black-and-White cows. *Anim Sci Pap Rep* 2004; 22(2): 185-94.
7. Fisher PJ, Spelman RJ. Verification of selective DNA pooling methodology through identification and estimation of the DGAT1 effect. *Anim Genet* 2004; 35: 201-5.
8. Grisart B, Coppieters W, Farnir F, Karim, L, Ford C, Berzi P, Cambisano N, Mni M, Reid S, Simon P, Spelman R, Georges M, Snell R. Positional candidate cloning of a QTL in dairy cattle: identification of a missense mutation in the bovine DGAT1 gene with major effect on milk yield and composition. *Genome Res* 2001; 12: 222-31.
9. Jeichitra V, Kandasamy N, Panneerselvam S. Milk protein polymorphism in Kangayam cattle. *Trop Anim Health Prod* 2003; 35(2): 147-53.
10. Joudrey EM, Lechniak D, Petrik J, King WA. Expression of growth hormone and its transcription factor, Pit-1, in early bovine development. *Mol Reprod Dev* 2003; 64: 275-83.
11. Kaupe B, Winter A, Fries R, Erhardt G. DGAT1 polymorphism in *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle breeds. *J Dairy Res* 2004; 71: 182-7.
12. Kepenek EŞ. Polymorphism of Prolactin (PRL), Diacylglycerol Acyltransferase1 (DGAT-1) and Bovine Solute Carrier Family 35 Member 3 (SLC35A3) Genes in Native Cattle Breeds and Its Implication for Turkish Cattle Breeding. The Degree of Master. The Graduate School of Natural and Applied Sciences of Middle East Technical University. Ankara-Türkiye, 2007.
13. Kovács K, Völgyi-Csík J, Zsolnai A, Györkös I, Fésüs L. Associations between the Alul polymorphism of growth hormone gene and production and reproduction traits in a Hungarian Holstein-Friesian bull dam population. *Arch Tierz* 2006; 49(3): 236-49.
14. Kühn C, Thaller G, Winter A, Bininda-Emonds ORP, Kaupe B, Erhardt G, Bennewitz J, Schwerin M, Fries R. Evidence for multiple alleles at the DGAT1 locus better explains a quantitative trait locus with major effect on milk fat content in cattle. *Genet* 2004; 167: 1873-81.
15. Lacorte GA, Machado MA, Martinez ML, Campos AL, Maciel RP, Verneque RS, Teodoro RL, Peixoto MGCD, Carvalho MRS, Fonseca CG. DGAT1 K232A polymorphism in Brazilian cattle breeds. *Genet Mol Res* 2006; 5(3): 475-82.
16. Litwinczuk Z, Krol J. Polymorphism of main milk proteins in beef cattle maintained in East-Central Poland. *Anim Sci Pap Rep* 2002; 20(Suppl 1): 33-40.
17. Mullen PA, Hopes R, Sewell J. The biochemistry, haematology, nutrition and racing performance of two-year-old thoroughbreds throughout their training and racing season. *Vet Rec* 1979; 104: 90-5.
18. Oikonomou G, Angelopoulou K, Arsenos G, Zygoiannis D, Banos G. The effects of polymorphisms in the DGAT1, leptin and growth hormone receptor gene loci on body energy, blood metabolic and reproductive traits of Holstein cows. *Anim Genet* 2008; 40: 10-7.
19. Özdemir M, Doğru Ü. Sığırların verim özellikleri üzerine etkili önemli moleküler markörler. *Atatürk Üniv Ziraat Fak Derg* 2008; 39 (1): 127-35.
20. Pareek CS, Czarnik U, Zabołewicz T, Pareek RS, Walawski K. DGAT1 K232A quantitative trait nucleotide polymorphism in Polish Black-and-White cattle. *J Appl Genet* 2005; 46(1): 85-7.
21. Reis C, Navas D, Pereira M, Cravador A. Growth hormone Alul polymorphism analysis in eight Portuguese bovine breeds. *Arch Zootec* 2001; 50: 41-8.

22. Rincón G, Armstrong E, Postiglioni A. Analysis of the population structure of Uruguayan Creole cattle as inferred from milk major gene polymorphisms. *Genet Mol Biol* 2006; 29(3): 491-5.
23. Ripoli MV, Corva P, Giovambattista G. Analysis of a polymorphism in the DGAT1 gene in 14 cattle breeds through PCR-SSCP methods. *Res Vet Sci* 2006; 80: 287-90.
24. Rose RJ, Hodgson DR. Haematological and plasma biochemical parameters in endurance horses during training. *Equine Vet J* 1982; 14: 144-8.
25. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Second Edition. New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1989.
26. Sanders K, Bennewitz J, Reinsch N, Thaller G, Prinzenberg EM, Kühn C, Kalm E. Characterization of the DGAT1 mutations and the CSN1S1 promoter in the German Angeln dairy cattle population. *J Dairy Sci* 2006; 89: 3164-74.
27. Sodhi M, Mukesh M, Prakash B, Mishra BP, Sobti RC, Singh KP, Singh S, Ahlawat SPS. MspI allelic pattern of bovine growth hormone gene in Indian Zebu cattle (*Bos indicus*) breeds. *Biochem Genet* 2007; 45(1/2): 145-53.
28. Spelman RJ, Ford CA, McElhinney P, Gregory GC, Snell RG. Characterization of the DGAT1 gene in the New Zealand dairy population. *J Dairy Sci* 2002; 85: 3514-7.
29. Şekerden Ö, Doğrul F, Erdem H. Türkiye'de Simental ineklerde kan ve süt protein polimorfizmi ve bunların muhtelif verim özelliklerine etkileri. *Tr J of Vet Anim Sci* 1999; 23 (Ek Sayı 1): 87-93.
30. Tambasco DD, Paz CCP, Tambasco-Studart MD, Pereira AP, Alencar MM, Freitas AR, Coutinho LL, Packer IU, Regitano LCA. Candidate genes for growth traits in beef cattle crosses *Bos taurus* x *Bos indicus*. *J Anim Breed Genet* 2003; 120: 51-6.
31. Thaller G, Kühn C, Winter A, Ewald G, Bellmann O, Wegner J, Zühlke H, Fries R. DGAT1 a new positional and functional candidate gene for intramuscular fat deposition in cattle. *Anim Genet* 2003; 34: 354-7.
32. Thaller G, Krämer W, Winter A, Kaupe B, Erhardt G, Fries R. Effects of DGAT1 variants on milk production traits in German cattle breeds. *Anim Sci* 2003; 81: 1911-8.
33. Tantia MS, Vijn RK, Mishra BP, Mishra B, Kumar STB, Sodhi M. DGAT1 and ABCG2 polymorphism in Indian cattle (*Bos indicus*) and buffalo (*Bubalus bubalis*) breeds. *BMC Vet Res* 2006; 2: 32.
34. Unanian MM, Barreto CC, Cordeiro CMT, Freitas AR, Josahkian LA. Possible Associations between bovine growth hormone gene polymorphism and reproductive traits. *Braz Arch Biol Technol* 2002; 45(3): 293-9.
35. Winter A, Krämer W, Werner F, Kollers S, Kata S, Durstewitz G, Buitkamp J, Womack J, Thaller G, Fries R. Association of a lysine-232/alanine polymorphism in a bovine gene encoding acyl-CoA:diacylglycerol acyltransferase (DGAT1) with variation at a quantitative trait locus for milk fat content. *PNAS* 2002; 99(14): 9300-5.

**Yazışma Adresi:**

Doç. Dr. Bilal AKYÜZ

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Genetik Anabilim Dalı

Melikgazi/KAYSERİ

Tel: 0352 2076666-29721

E-mail: bakyuz@erciyes.edu.tr





## Evaluation of Major Cattle Breeds in Turkey for Slaughter and Carcass Traits Using MANOVA and Multidimensional Scaling Technique\*

Sedat HAMDİ KIZIL<sup>1</sup>, Muhterem AYDOĞAN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Lalahan Livestock Central Research Institute, Lalahan- Ankara -TURKEY

<sup>2</sup>Ankara University, Faculty of Veterinary Medicine, Zootechny Department Ankara-TURKEY

**Summary :** In this study, MANOVA and Multidimensional Scaling techniques were used for 11 slaughter traits (body weight, skin weight, head weight, leg weight, lung weight, heart weight, liver weight, spleen weight, testis weight, penis weight, internal fat weight) and 18 carcass traits (hot carcass weight, cold carcass weight, right forequarter weight, right hindquarter weight, hot kidney weight, hot kidney fat weight, cold kidney weight, cold kidney fat weight, sirloin weight, rib-eye weight, short loin weight, round weight, bone weight, rib-eye area, fat thickness, hot dressing percentage, cold dressing percentage, bone ratio) to compare Turkish native cattle breeds (Native Black, East Anatolian Red, Southeast Anatolian Red), crossbreed (Native Black × Brown Swiss) and foreign breeds (Simmental, Holstein, Brown Swiss) in Turkey. Results of the two methods were similar and supported each other. Differences between foreign breeds (Simmental, Holstein and Brown Swiss) and native breeds and crossbreed (Native Black, East Anatolian Red, Southeast Anatolian Red, Native Black × Brown Swiss) were highly significant in favor of the foreign breeds. Simmental had the highest values in all traits except for testes weight and bone ratio. Holstein and Brown Swiss had similar values in all other traits except for skin weight, rib-eye weight and bone ratio. Native Black × Brown Swiss crossbreed had the highest and Native Black cattle had the lowest values among the three native breeds and crossbreed for all the 28 traits investigated, except for bone ratio. East Anatolian Red and Southeast Anatolian Red had similar values for all the traits investigated. Only for back fat thickness, native breeds and crossbreeds were similar to each other.

**Key Words:** Crossbreeding, MANOVA, multidimensional scaling, native breeds, slaughter and carcass traits

### Türkiye'deki Başlıca Sığır Irklarının Kesim ve Karkas Özelliklerinin MANOVA ve Çok Boyutlu Ölçüm Tekniği Kullanılarak Değerlendirilmesi

**Özet :** Bu çalışmada, Türkiye'deki yerli ırklar (Yerli Kara, Doğu Anadolu Kırmızısı, Güneydoğu Anadolu Kırmızısı), melez (Yerli Kara × Esmer) ve kültür ırklarına (Simmental, Siyah Alaca, Esmer) ait, 11 kesim özelliği (canlı ağırlık, deri, baş, ayak, akciğer, kalp, karaciğer, dalak, testis, penis, iç yağı ağırlıkları) ve 18 karkas özelliğinin (sıcak karkas, soğuk karkas, sağ ön kol, sağ but, sıcak böbrek, sıcak böbrek yağı, soğuk böbrek, soğuk böbrek yağı, bonfile, pirzola, kontrfile, but etleri ve kemik ağırlıkları, MLD alanı (cm<sup>2</sup>), kabuk yağı kalınlığı (cm), sıcak karkas yüzdesi, soğuk karkas yüzdesi, kemik oranı) karşılaştırılmasında MANOVA ve çok boyutlu ölçüm teknikleri uygulanmıştır. Her iki metodun sonuçları birbirine benzer ve birbirini destekler mahiyettedir. Kültür ırkları (Simmental, Siyah Alaca, Esmer) ile yerli ırklar (Yerli Kara, Doğu Anadolu Kırmızısı, Güneydoğu Anadolu Kırmızısı) ve melezler (Yerli Kara × Esmer) arasındaki farklar, kültür ırkları yönünde yüksek oranda önemli bulunmuştur. Simmental ırkı, testis ağırlığı ve kemik oranı haricindeki tüm özelliklerde en yüksek değerlere sahiptir. Siyah Alaca ve Esmer ırkları, deri ağırlığı, pirzola ağırlığı ve kemik oranı haricindeki tüm özelliklerde birbirine benzer değerlere sahiptir. Melezler, yerli ırklarla karşılaştırıldığında, kemik oranı haricindeki tüm özelliklerde en yüksek değerleri göstermiştir. Yerli Kara ırkında, yerli ırklar arasında kemik oranı haricindeki tüm özelliklerde en düşük değerler elde edilmiştir. Doğu Anadolu Kırmızısı ve Güneydoğu Anadolu Kırmızısı ise, incelenmiş olan tüm özellikler yönünden benzer değerlere sahip bulunmuştur. Sadece kabuk yağı kalınlığı yönünden, yerli ırk ve melezler birbirine benzerlik göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Çok boyutlu ölçüm, kesim ve karkas özellikleri, MANOVA, melezleme, yerli ırklar

#### Introduction

In this study, only a limited number of traits that reported before in other studies have been investigated and univariate methods were used to analyze the values (1, 2, 5, 8, 9, 13, 15, 16, 17, 19). Univariate methods does not account for correlations among the traits, which leads to lost information. The pre-determined Type I error rate ( $\alpha$ ) cannot be maintained. Pala et al. (18) reported that when only weaning weight was evaluated, Angus crosses had the lowest values (lightest calves) among three

breeds (Angus × Hereford, Brangus × Hereford and Gelbvieh × Hereford) having added conception rate to the equation, Angus crosses had the highest values. This indicates that evaluating a single trait may lead to inaccurate conclusions when other traits may be of economic value too. All traits are considered as essential when there are correlations among them. Multivariate Analysis of Variance (MANOVA) and Multidimensional Scaling techniques are used to analyze the data to obtain detailed information on the breeds. Univariate statistics such as ANOVA are usually employed when the effects of independent factors on dependent factors are investigated. If there are no correlations among the traits investigated, univariate statistics may be valid (23), while this is not

Geliş Tarihi / Submission Date : 25.02.2013

Kabul Tarihi / Accepted Date : 20.09.2013

\*This study was prepared from the doctorate thesis of author

the case in most situations. When a limited number of traits investigated are dependent of each other, univariate statistics leads to lost information and the pre-determined Type I error rate ( $\alpha$ ) cannot be maintained due to ignored correlations (21).

Multidimensional Scaling technique (MDS) is a technique for finding a configuration of points in low dimensional space that represents multivariate data. Basically, the purpose of MDS is to provide a visual representation of the pattern of proximities (i.e., similarities or distances) among a set of objects. The MDS plots the objects on a map such that objects that are very similar to each other are placed close to each other on the map, and objects that are very different from each other are placed far away from each other on the map. That is, the points that are close to each other in the map indicate a relationship between the pairs as well as similarity of behavior with respect to the remaining variables or objects.

This study was conducted to compare the slaughter and carcass traits of common Turkish native cattle breeds (Native Black cattle, East Anatolian Red, Southeast Anatolian Red), crossbreed (Native Black  $\times$  Brown Swiss) and foreign breeds (Simmental, Holstein, Brown Swiss) in Turkey.

### Materials and Methods

Data used in this study were obtained from 49 Native Black Cattle, 32 East Anatolian Red, 14 Southeast Anatolian Red cattle, 51 Native Black  $\times$  Brown Swiss crosses, 44 Simmental, 57 Holstein Friesian and 76 Brown Swiss male cattle. The cattle were slaughtered at The General Directorate of Meat and Fish Slaughterhouse in Malatya, Turkey.

Ages of the cattle were determined by means of post-mortem inspection of incisive teeth. The cattle were grouped according to their ages. While the age of the first group of cattle was younger than two-year-old, the second group was older than two-year-old.

The animals were weighed with scale (Egema Quantum brand) sensitive to 1 kg. After slaughter, head and legs (below carpal and tarsal, skin (including the head), lungs, heart, liver and internal fat were weighed using Minipond 85 x DA floor scale with electronic reader and FUJITSU DL 3400 printer. The scale was 200 g sensitive. The slaughter traits were body weight, skin weight, head weight, legs weight, lungs weight, heart weight, liver weight, spleen weight, testes weight, penis weight and internal fat weight.

Carcass was divided into two parts vertically and the hot carcass was weighed using ESIT FIXUM IQA air scale with electronic reader and FUJITSU DL-3600 printer. The scale was 200 g sensitive. Kidneys and kidney fat were removed immediately after weighing the hot carcass, and were weighed using DIGI SM

15 electronic scale. The scale was sensitive to 1 g. The same scale was used to measure rested (cold) weights of the kidneys and kidney fat after the organs were rested for 24 hours in 4°C. The right and left parts of the carcass were cleaved between the 12th and 13th ribs to divide the carcass into front (chest and ribs) and back (hind legs) parts. Next, they were rested for 24 hours at 4°C and were weighed. The following was performed: (i) rib eye area and the outer fat of the front part were drawn on a tracing paper, (ii) *Musculus longissimus dorsi* (MLD) section was measured using planimeter, (iii) fat thickness was measured using a ruler.

Right side of the cold carcass was dissected to weigh the sirloin, rib-eye area, short loin, round cuts and the bones. The values were multiplied by two to obtain the values for the whole body. Dissection of the carcass was performed according to the rules of the Turkish Standards Institution (6). The carcass traits were hot carcass weight, cold carcass weight, right forequarter weight, right hindquarter weight, hot kidney weight, hot kidney fat weight, cold kidney weight, cold kidney fat weight, sirloin weight, rib-eye weight, short loin weight, round weight, bone weight, rib-eye area, fat thickness, hot dressing percentage, cold dressing percentage, and bone ratio.

MANOVA and Multidimensional Scaling (MDS) techniques were used in all analyses. MANOVA techniques were employed to investigate the differences among 7 breeds, using PROC GLM procedure of SAS (20). The values were corrected for age of the cattle and season effects. In MANOVA, the null hypothesis ( $H_0$ ) and the alternative hypothesis ( $H_1$ ) can be stated as follows:

$$H_0 : \mu_{11} = \mu_{12} = \dots = \mu_{17}, \dots \text{ and } \mu_{291} = \mu_{292} = \dots = \mu_{297}$$

$H_0$  states that means of the variable 1 are the same for all 7 breeds and means of the 29 variables are the same for all 7 breeds.  $\mu_{ij}$  refers to the population mean of variable  $i$  in breed  $j$  ( $i=1, 2, \dots, 29; j=1, 2, \dots, 7$ ).

$H_1$ : The 7 breeds do not have the same means for variable (trait) 1, ..., and the same means for variable 29.

Bonferroni confidence intervals were used to investigate the differences of the breeds with the following equation (1):

$$\bar{X}_{mi} - \bar{X}_{li} \pm t \left( n-k; \frac{\alpha}{pk(k-1)} \right) \sqrt{\frac{w_{ii}}{n-k} \left( \frac{1}{n_m} - \frac{1}{n_l} \right)}$$

Where

$i$ : dependent variable ( $i^{\text{th}}$  traits)

$m$  and  $l$ : breeds to be compared for the specified trait

$w_{ii}$ : diagonal element of  $i^{th}$  trait in error sum of squares matrix

p: number of traits

$$\delta_{ij} = a + bd_{ij} + e \quad (2)$$

k: number of breeds

According to distances, configuration distances were computed using the following linear regression equation:

Where

a: constant

b: regression coefficient or slope

$d_{ij}$ : the distances between the points

e: residual

The degree of correspondence between the distances among points implied by MDS map and the matrix input by the user was measured (inversely) by a stress function. The smaller the stress, the better the representation (10, 14). Kruskal (14) suggests that stress should be informally interpreted according to the following guidelines. Stress coefficients for goodness of fit obtained in this study were given in Table1. The general form of these functions was as follows:

$$\text{Stress} = \sqrt{\frac{\sum \sum (f(X_{ij}) - d_{ij})^2}{\text{scale}}} \quad (3)$$

Where

$d_{ij}$ : the Euclidean distance, across all dimensions, between points i and j on the map

$f(x_{ij})$ : function of the input data, and scale refers to a constant scaling factor, used to keep stress values

between 0 and 1. When the MDS map perfectly reproduces the input data

$$f(x_{ij}) - d_{ij} = 0 \text{ for all } i \text{ and } j$$

Generally, classical MDS employs Euclidean distance to model dissimilarity. That is, the distance  $d_{ij}$  between points i and j is defined as:

$$d_{ij} = \sqrt{\sum (x_{ia} - x_{ja})^2}$$

Where

$X_i$ : the position (coordinate) of point i (10, 14).

**Table 1.** Stress coefficients for goodness of fit

| Stress      | Goodness of fit |
|-------------|-----------------|
| $\leq 0.20$ | Poor            |
| 0.10-<0.20  | Fair            |
| 0.05-<0.10  | Good            |
| 0.025-<0.05 | Excellent       |
| 0.00-<0.025 | Perfect         |

## Results

Least squares means, results of Bonferroni multiple comparisons, and stimulus (traits) coordinates were given in Table 2, 3 and 4, respectively. The F-statistics and Pillai's Trace statistics had the value of 10.23 and 3.039, respectively. Hence, it may be concluded that the seven breeds do not have the same means for all variable (trait) ( $P < 0.01$ ).

**Table 2.** Least squares means ( $\bar{X}$ ) and their standard errors ( $S_{\bar{X}}$ )

| Slaughter traits                | TBC                           | CROSS                         | SAR                           | EAR                           | SIM                           | HOS                           | BSW                           |
|---------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
|                                 | (n=49)                        | (n=51)                        | (n=14)                        | (n=32)                        | (n=44)                        | (n=57)                        | (n=76)                        |
|                                 | ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ ) | ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ ) | ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ ) | ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ ) | ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ ) | ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ ) | ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ ) |
| Body weight (kg)                | 218.87±11.52                  | 358.72±12.44                  | 293.30±15.05                  | 288.33±21.34                  | 580.05±11.97                  | 497.03±12.23                  | 476.32±10.03                  |
| Skin weight (kg)                | 23.16±1.17                    | 37.24±1.26                    | 26.11±1.52                    | 29.51±2.19                    | 54.43±1.21                    | 48.42±1.23                    | 48.42±1.24                    |
| Head weight (kg)                | 6.85±0.36                     | 11.97±0.38                    | 9.19±0.46                     | 9.85±0.67                     | 16.88±0.38                    | 16.14±0.31                    | 11.97±0.38                    |
| Legs weight (kg)                | 3.14±0.19                     | 5.47±0.20                     | 3.85±0.25                     | 3.69±0.36                     | 8.83±0.20                     | 6.92±0.20                     | 7.56±0.17                     |
| Lungs weight (kg)               | 2.59±0.12                     | 4.03±0.13                     | 3.37±0.15                     | 3.22±0.22                     | 5.51±0.12                     | 5.37±0.12                     | 5.17±0.10                     |
| Heart weight (kg)               | 0.77±0.10                     | 1.24±0.10                     | 1.14±0.13                     | 0.86±0.18                     | 3.51±0.10                     | 1.94±0.10                     | 1.62±0.08                     |
| Liver weight (kg)               | 2.78±0.13                     | 4.39±0.14                     | 3.71±0.17                     | 3.75±0.25                     | 6.10±0.14                     | 5.71±0.14                     | 5.53±0.11                     |
| Spleen weight (kg)              | 0.39±0.02                     | 0.68±0.02                     | 0.54±0.03                     | 0.52±0.04                     | 1.07±0.02                     | 0.93±0.02                     | 1.00±0.02                     |
| Testis weight (kg)              | 0.26±0.02                     | 0.46±0.02                     | 0.37±0.02                     | 0.37±0.04                     | 0.71±0.02                     | 0.69±0.02                     | 0.75±0.02                     |
| Penis weight (kg)               | 0.40±0.02                     | 0.68±0.03                     | 0.54±0.03                     | 0.53±0.05                     | 1.09±0.03                     | 1.00±0.02                     | 0.68±0.03                     |
| Internal fat weight (kg)        | 3.12±0.24                     | 4.52±0.26                     | 4.57±0.317                    | 3.39±0.46                     | 7.43±0.25                     | 6.58±0.26                     | 6.47±0.21                     |
| <b>Carcass traits</b>           |                               |                               |                               |                               |                               |                               |                               |
| Hot carcass weight (kg)         | 129.27±7.38                   | 223.14±8.00                   | 177.36±9.64                   | 175.71±13.86                  | 365.22±7.67                   | 313.13±7.83                   | 297.84±6.42                   |
| Cold carcass weight (kg)        | 121.71±7.12                   | 213.03±7.70                   | 168.71±9.30                   | 166.89±13.37                  | 349.17±7.40                   | 298.94±7.56                   | 285.78±6.20                   |
| Right forequarter weight (kg)   | 34.39±2.04                    | 60.05±2.20                    | 47.73±2.66                    | 47.01±3.82                    | 98.17±2.11                    | 86.16±2.16                    | 79.95±1.77                    |
| Right hindquarter weight (kg)   | 26.52±1.54                    | 46.71±1.66                    | 36.62±2.01                    | 36.84±2.89                    | 76.40±1.60                    | 63.28±1.63                    | 62.97±1.34                    |
| Hot kidney weight (kg)          | 0.39±0.02                     | 0.63±0.02                     | 0.52±0.03                     | 0.45±0.05                     | 1.00±0.02                     | 0.84±0.02                     | 0.82±0.02                     |
| Hot kidney fat weight (kg)      | 3.18±0.37                     | 5.65±0.40                     | 4.58±0.48                     | 4.35±0.69                     | 11.21±0.38                    | 8.88±0.39                     | 7.63±0.32                     |
| Cold kidney weight (kg)         | 0.39±0.02                     | 0.62±0.02                     | 0.51±0.03                     | 0.44±0.04                     | 1.00±0.02                     | 0.82±0.02                     | 0.80±0.02                     |
| Cold kidney fat weight (kg)     | 3.13±0.37                     | 5.59±0.40                     | 4.52±0.48                     | 4.29±0.69                     | 11.07±0.38                    | 8.78±0.39                     | 7.55±0.32                     |
| Sirloin weight (kg)             | 1.46±0.10                     | 2.71±0.11                     | 2.20±0.13                     | 1.99±0.18                     | 4.47±0.10                     | 3.70±0.10                     | 3.73±0.09                     |
| Rib-eye weight (kg)             | 5.26±0.32                     | 9.22±0.35                     | 7.08±0.35                     | 6.96±0.61                     | 13.82±0.34                    | 10.90±0.34                    | 12.14±0.28                    |
| Short loin weight (kg)          | 2.84±0.18                     | 5.12±0.20                     | 3.78±0.24                     | 3.47±0.35                     | 9.14±0.19                     | 6.90±0.20                     | 7.03±0.16                     |
| Round weight (kg)               | 16.66±1.25                    | 31.78±1.35                    | 22.91±1.64                    | 23.98±2.35                    | 55.00±1.30                    | 45.37±1.33                    | 45.67±1.09                    |
| Bone weight (kg)                | 15.36±1.04                    | 29.78±1.12                    | 23.11±1.36                    | 23.65±1.95                    | 48.13±1.08                    | 41.31±1.10                    | 41.22±0.90                    |
| Rib-eye area (cm <sup>2</sup> ) | 43.59±2.07                    | 68.14±2.24                    | 54.66±2.71                    | 59.64±3.89                    | 98.30±2.15                    | 84.26±2.20                    | 83.45±1.80                    |
| Fat thickness (cm)              | 0.33±0.02                     | 0.39±0.01                     | 0.37±0.01                     | 0.38±0.01                     | 0.51±0.02                     | 0.48±0.02                     | 0.52±0.02                     |
| Hot dressing percentage (%)     | 0.59±0.001                    | 0.62±0.001                    | 0.61±0.001                    | 0.61±0.001                    | 0.63±0.001                    | 0.63±0.001                    | 0.62±0.001                    |
| Cold dressing percentage (%)    | 0.55±0.001                    | 0.59±0.001                    | 0.58±0.001                    | 0.58±0.001                    | 0.60±0.001                    | 0.60±0.001                    | 0.59±0.001                    |
| Bone ratio (%)                  | 0.13±0.001                    | 0.14±0.001                    | 0.13±0.001                    | 0.15±0.001                    | 0.14±0.001                    | 0.14±0.001                    | 0.15±0.001                    |

**TBC:** Native Black Cattle, **CROSS:** Native Black × Brown Swiss crosses, **EAR:** East Anatolian Red, **SAR:** Southeast Anatolian Red, **SIM:** Simmental, **HOS:** Holstein, **BSW:** Brown Swiss

Among native breeds and the crosses, Native Black × Brown Swiss crosses had the highest and Native Black cattle had the lowest values for all the 28 traits investigated, except for bone ratio (Table 2). The only similarity among the three breeds and the crosses was the fat thickness (Table 3). East Anatolian Red and Southeast Anatolian Red breeds had similar values for all traits ( $P > 0.05$ ). Differences between Native Black × Brown Swiss crosses and Native Black were significant for all other traits measured except for the fat thickness ( $P < 0.01$ ). Differences between Southeast Anatolian Red and Native Black were also

significant for all traits ( $P < 0.05$ ), except for skin weight, legs weight, heart weight, hot kidney fat weight, cold kidney fat weight, fat thickness and bone ratio. Native Black cattle and East Anatolian Red breeds had similar values for all 11 slaughter traits ( $P > 0.05$ ) except for head and liver weight ( $P < 0.05$ ). The two breeds were significantly different for the carcass traits hot carcass weight, cold carcass weight, right forequarter weight, right hindquarter weight, bone weight, rib-eye area, hot dressing percentage, cold dressing percentage and bone ratio ( $P < 0.01$ ) while the differences were non-significant for hot kidney



weight, hot kidney fat weight, cold kidney weight, cold kidney fat weight, sirloin weight, rib-eye weight, short loin weight, round weight and fat thickness ( $P>0.05$ ). Rank of the animals for body weight was consistent with literature values (3, 4, 7, 11, 16, 22). The rib-eye areas in this study were higher than those reported in the studies by Alpan et al. (4), Arpacık et al. (7) and Çolpan (11) for East Anatolian Red. The rib-eye and round cut weights were lower and short loin weights were higher than those reported in the studies by Eker et al. (12) for East Anatolian Red breed. Simmental had the highest values in all traits except testes weight and bone ratio (Table 2). Holstein and Brown Swiss had similar values in all traits ( $P>0.05$ ) except for skin weight, rib-eye weight and bone ratio. Simmental and Holstein cattle had similar values for head weight, lungs weight, liver weight, testes weight, penis weight, internal fat weight, fat thickness, hot dressing percentage, cold dressing percentage and bone ratio ( $P>0.05$ ) while all other traits were different in ( $P<0.01$ ). The relationship between these two breeds also exists between Simmental and Brown Swiss (Table 3). Results of this study supported results of Pala et al. (18).

In the MDS technique, the traits were placed on a map as objects (Figure 1, Figure 2). Derived stimulus configuration Euclidean distance model for native, crossbreds and foreign breeds, scatter plot of fit Euclidean distance model for foreign breeds were given in Figure 1, Figure3 and Figure 4 respectively. The four breeds (native breeds and crossbred) were far away on the map for body weight, skin weight, hot carcass weight, cold carcass weight, right forequarter weight, right hindquarter weight, round weight, bone weight and rib-eye area. The breeds were close to each other for head weight, legs weight, lungs weight, heart weight, liver weight, spleen weight, testes weight, penis weight, internal fat weight, hot kidney weight, hot kidney fat weight, cold kidney weight, cold kidney fat weight, sirloin weight, rib-eye weight, short loin weight, fat thickness, hot dressing percentage cold dressing percentage and bone ratio. Among the 29 traits measured; legs weight, lungs weight, heart weight, liver weight, spleen weight, testes

weight, penis weight, internal fat weight, hot kidney weight, cold kidney weight, cold kidney fat weight, sirloin weight, short loin weight, fat thickness, and hot dressing percentage were close to each other for foreign breeds (Simmental, Holstein and Brown Swiss). On the other hand, body weight, skin weight, head weight, hot carcass weight, cold carcass weight, right forequarter weight, right hindquarter weight and rib-eye area were far away on the map for these breeds. Body weight, hot carcass weight, cold carcass weight, right forequarter weight, right hindquarter weight and rib-eye area seem to be the major traits determining the breed differences, and body weight differences seem to be the highest among the breeds (Figure 2, Table 4). Using MDS technique in comparing the breeds in addition to MANOVA increases the accuracy of results (20).

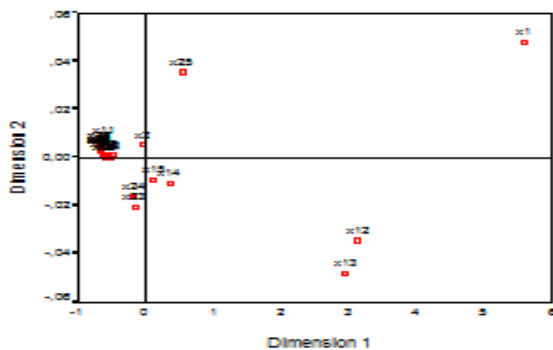
**Discussion and Conclusion**

The two statistical methods, MANOVA and Multidimensional Scaling had similar results in comparing the native and foreign breeds and their crosses for the 29 traits. This indicates that the results obtained from the two methods are reliable for the data examined. Southeast Anatolian Red or East Anatolian Red can be used for further crossbreeding studies. Rank of the animals for bone ratio was consistent with literature (7). One breed can replace another one for the traits considered here and Native Black should be used only in harsh conditions or when any of these breeds is not available. Simmental should be used as opposed to Holstein or Brown Swiss in Turkey's conditions for meat traits. Rank of the animals for body weight was consistent with literature (5). Holstein and Brown Swiss were similar for the traits investigated and they can replace each other.

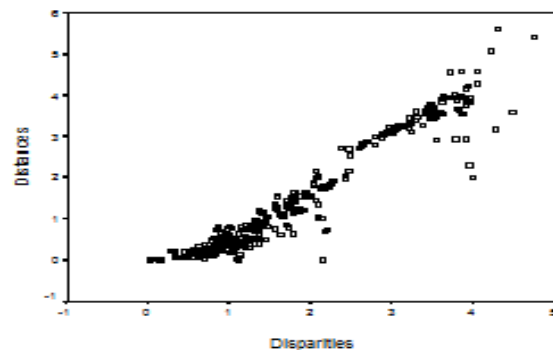
In Figure 1 and 2, X1 to X29 and Y1 to Y29 represents traits for the Native Black cattle, East Anatolian Red, Southeast Anatolian Red and Native Black × Brown Swiss breeds. Y1 to Y29 represents the same traits for Simmental, Holstein Friesian and Brown Swiss.

As a result these two statistical methods were found to be equivalent to asses those kind of dataset used in this study.

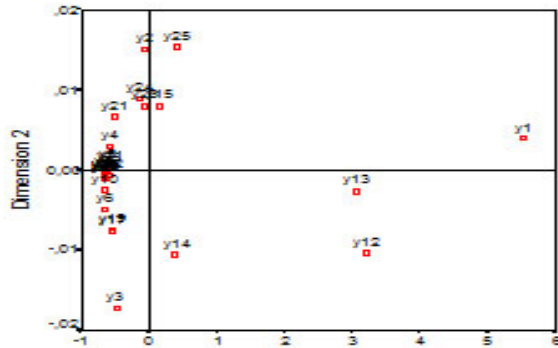
**Figure 1.** Derived stimulus configuration Euclidean distance model for native and crossbreds



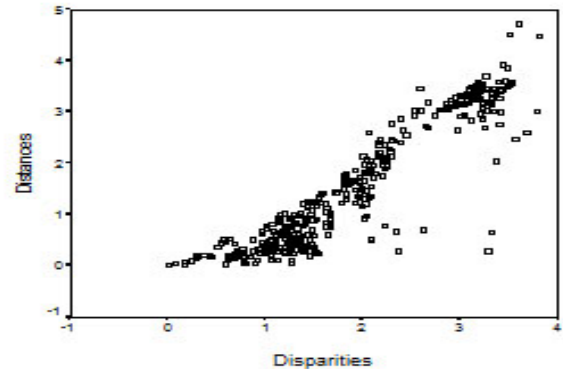
**Figure 2.** Scatter plot of fit Euclidean distance model for native and crossbreds



**Figure 3.** Derived stimulus configuration Euclidean distance model for foreign breeds



**Figure 4.** Scatter plot of fit Euclidean distance model for foreign breeds



**Table 3.** Results of Bonferroni multiple comparison test

| Traits                          | TBC-CROSS | TBC-SAR | TBC-EAR | CROSS-SAR | CROSS-EAR | SAR-EAR | SIM-HOS | SIM-BSW | HOS-BSW |
|---------------------------------|-----------|---------|---------|-----------|-----------|---------|---------|---------|---------|
| <b>Slaughter traits</b>         |           |         |         |           |           |         |         |         |         |
| Body weight (kg)                | **        | **      | NS      | **        | **        | NS      | **      | **      | NS      |
| Skin weight (kg)                | **        | NS      | NS      | **        | **        | NS      | **      | **      | **      |
| Head weight (kg)                | **        | **      | **      | **        | NS        | NS      | NS      | NS      | NS      |
| Legs weight (kg)                | **        | NS      | NS      | **        | **        | NS      | **      | **      | NS      |
| Lungs weight (kg)               | **        | **      | NS      | **        | **        | NS      | NS      | NS      | NS      |
| Heart weight (kg)               | **        | NS      | NS      | NS        | NS        | NS      | **      | **      | NS      |
| Liver weight (kg)               | **        | **      | **      | **        | NS        | NS      | NS      | **      | NS      |
| Spleen weight (kg)              | **        | **      | NS      | **        | **        | NS      | **      | ns      | NS      |
| Testis weight (kg)              | **        | **      | NS      | NS        | NS        | NS      | NS      | NS      | NS      |
| Penis weight (kg)               | **        | **      | NS      | **        | **        | NS      | NS      | NS      | NS      |
| Internal fat weight (kg)        | **        | **      | NS      | NS        | NS        | NS      | NS      | NS      | NS      |
| <b>Carcass traits</b>           |           |         |         |           |           |         |         |         |         |
| Hot carcass weight (kg)         | **        | **      | **      | **        | **        | NS      | **      | **      | NS      |
| Cold carcass weight (kg)        | **        | **      | **      | **        | **        | NS      | **      | **      | NS      |
| Right forequarter weight (kg)   | **        | **      | **      | **        | **        | NS      | **      | **      | NS      |
| Right hindquarter weight (kg)   | **        | **      | **      | **        | **        | NS      | **      | **      | NS      |
| Hot kidney weight (kg)          | **        | **      | NS      | NS        | **        | NS      | **      | **      | NS      |
| Hot kidney fat weight (kg)      | **        | NS      | NS      | NS        | NS        | NS      | **      | **      | NS      |
| Cold kidney weight (kg)         | **        | **      | NS      | **        | **        | NS      | **      | **      | NS      |
| Cold kidney fat weight (kg)     | **        | NS      | NS      | NS        | NS        | NS      | **      | **      | NS      |
| Sirloin weight (kg)             | **        | **      | NS      | **        | **        | NS      | **      | **      | NS      |
| Rib-eye weight (kg)             | **        | **      | NS      | **        | **        | NS      | **      | **      | **      |
| Short loin weight (kg)          | **        | **      | NS      | **        | **        | NS      | **      | **      | NS      |
| Round weight (kg)               | **        | **      | NS      | **        | **        | NS      | **      | **      | NS      |
| Bone weight (kg)                | **        | **      | **      | **        | NS        | NS      | **      | **      | NS      |
| Rib-eye area (cm <sup>2</sup> ) | **        | **      | **      | **        | NS        | NS      | **      | **      | NS      |
| Fat thickness (cm)              | NS        | NS      | NS      | NS        | NS        | NS      | NS      | NS      | NS      |
| Hot dressing percentage (%)     | **        | **      | **      | **        | NS        | NS      | NS      | NS      | NS      |
| Cold dressing percentage (%)    | **        | **      | **      | NS        | NS        | NS      | NS      | NS      | NS      |
| Bone ratio (%)                  | **        | NS      | **      | NS        | NS        | NS      | NS      | **      | **      |

\*\* : (P<0.01) Statistically significant difference, **NS** : (P>0.05) Non significant

**TBC:** Native Black Cattle, **CROSS:** Native Black × Brown Swiss crosses, **EAR:** East Anatolian Red, **SAR:** Southeast Anatolian Red, **SIM:** Simmental, **HOS:** Holstein, **BSW:** Brown Swiss

**Table 4.** Stimulus (traits) coordinates

|                          | Native Breeds |         | Foreign Breeds |         |
|--------------------------|---------------|---------|----------------|---------|
|                          | Dim 1         | Dim 2   | Dim 1          | Dim 2   |
| <b>Slaughter traits</b>  |               |         |                |         |
| Body weight              | <b>5.5837</b> | 0.0476  | <b>5.5106</b>  | 0.0039  |
| Skin weight              | -0.0463       | 0.0050  | -0.0720        | 0.0151  |
| Head weight              | -0.4673       | 0.0007  | -0.4930        | -0.0172 |
| Legs weight              | -0.5847       | -0.0001 | -0.5797        | 0.0029  |
| Lungs weight             | -0.6012       | 0.0044  | -0.6089        | 0.0006  |
| Heart weight             | -0.6507       | 0.0030  | -0.6437        | -0.0048 |
| Liver weight             | -0.5936       | 0.0048  | -0.6037        | 0.0004  |
| Spleen weight            | -0.6608       | 0.0027  | -0.6605        | -0.0004 |
| Testis weight            | -0.6644       | 0.0027  | -0.6640        | -0.0004 |
| Penis weight             | -0.6607       | 0.0028  | -0.6614        | -0.0025 |
| Internal fat weight      | -0.5887       | 0.0067  | -0.5911        | 0.0004  |
| <b>Carcass traits</b>    |               |         |                |         |
| Hot carcass weight       | <b>3.1464</b> | -0.0347 | <b>3.2138</b>  | -0.0104 |
| Cold carcass weight      | <b>2.9590</b> | -0.0484 | <b>3.0451</b>  | -0.0027 |
| Right forequarter weight | 0.3524        | -0.0109 | 0.3793         | -0.0106 |
| Right hindquarter weight | 0.1226        | -0.0095 | 0.1345         | 0.0080  |
| Hot kidney weight        | -0.6616       | 0.0029  | -0.6619        | -0.0010 |
| Hot kidney fat weight    | -0.5760       | 0.0011  | -0.5614        | -0.0077 |
| Cold kidney weight       | -0.6617       | 0.0029  | -0.6620        | -0.0011 |
| Cold kidney fat weight   | -0.5772       | 0.0010  | -0.5627        | -0.0075 |
| Sirloin weight           | -0.6269       | 0.0013  | -0.6251        | -0.0003 |
| Rib-eye weight           | -0.5177       | -0.0002 | -0.5258        | 0.0066  |
| Short loin weight        | -0.5896       | -0.0004 | -0.5803        | -0.0007 |
| Round weight             | -0.1531       | -0.0206 | -0.0910        | 0.0080  |
| Bone weight              | -0.1720       | -0.0167 | -0.1530        | 0.0089  |
| Rib-eye area             | 0.5437        | 0.0355  | 0.3854         | 0.0154  |
| Fat thickness            | -0.6645       | 0.0038  | -0.6665        | -0.0006 |
| Hot dressing percentage  | -0.6595       | 0.0049  | -0.6650        | -0.0008 |
| Cold dressing percentage | -0.6602       | 0.0047  | -0.6654        | -0.0008 |
| Bone ratio               | -0.6694       | 0.0033  | -0.6707        | -0.0009 |

Dim : Dimension

**References**

1. Akbulut Ö, Tüzemen N. 8-12 aylık yaşlarda besiye alınan Esmer, Siyah Alaca ve Sarı Alaca tosunların besi performansı, kesim ve karkas özellikleri. Atatürk Üniv Zir Fak Derg 1994; 425(2): 134-44.
2. Aleksić S, Petrović MM, Pantelić V, Novaković Ž, Stanišić N, Novaković M. Investigation of the effect of mass prior to slaughtering on slaughter values of male fattening young cattle of domestic Simmental breed. Biotech Anim Husb 2009; 25(1-2): 93-9.
3. Alpan O, Sezgin Y. Holştayn, Güney Anadolu Kırmızısı ve bunların melezlerinde besi kabiliyeti ve karkas özellikleri. A Ü Vet Fak Derg 1976; 23: 1-22.
4. Alpan O, Akcan A, Özbeyaz C. Besi sığırlarında yemleme sıklığının besi performansı ve karkas özellikleri üzerine etkisi. Doğa Türk Vet Hay Derg 1989; 319-30.
5. Altuntaş M, Arpacık R. Farklı yaşlarda besiye alınan Simental tosunlarda besi performansı ve optimum kesim ağırlıkları. Lalahan Hayv Araş Enst Derg 2004; 44(1): 7-16.
6. Anonymous. Kasaplık sığır gövde etleri parçalama kuralları. TSE, I. Baskı, 1990.
7. Arpacık R, Akçapınar H, Alıç K. Sınırlı ve sınırsız yemlemenin DAK ve Montafon × DAK erkek danalarının kesim ve karkas özelliklerine etkisi. Lalahan Zootekni Araş Enst Derg 1976; 16: 31-58.
8. Arpacık R, Nazlıgül A, Beyhan Z, Atasoy F. Esmer ırk danalarda besi başı ağırlığının besi performansı ve besi ekonomisine etkisi. Lalahan Hay Araş Enst Derg 1994; 34: 79-89.
9. Başpınar H. Holştayn × Yerli Kara F1 melezi erkek danaların yarı açık ahır koşullarında besi performansı ve karkas özellikleri. Lalahan Hay Araş Enst Derg 1991; 31: 1-8.

10. Başpınar E, Mendeş M, Camdeviren H. Multidimensional scaling analysis and its usage. *Biyoteknoloji (KUKEM) Derg* 2000; 24: 89-98.
11. Çolpan İ. Doğu Anadolu Kırmızısı sığırlarda üreli rasyonların büyüme ve besi kalitesine etkisi. Doktora Tezi. A Ü Sağ Bil Enst 1977.
12. Eker M, Tuncel E, Bayraktaroğlu EA, Yener SM. Doğu Anadolu Kırmızısı sığırının süt ve et verim yeteneği. *Doğa Bilim Derg* 1982; 18-22.
13. Koç A, Akman N. Farklı ağırlıkta besiyeye alınan ithal edilmiş Siyah-Alaca tosunların besi gücü ve karkas özellikleri. *Hayvansal Üretim* 2003; 44(1): 26-36.
14. Kruskal JB. Multidimensional scaling by optimizing goodness of fit to a nonmetric hypothesis. *Psychometrika* 1964; 29(1): 1-27.
15. Manafiazar G, Mohsenourazary A, Afsharihamidi B, Mahmoodi B. Comparison carcass traits of Azeri buffalo, native and crossbred (Native × Holstein) male calves in west Azerbaijan-Iran. *Italian J Anim Sci* 2007; 6(2): 1167-70.
16. Özlütürk A, Tuzemen N, Yanar M, Esenbuga N, Dursun E. Fattening performance, carcass traits and meat quality characteristics of calves sired by Charolais, Simmental and Eastern Anatolian Red sires mated to Eastern Anatolian Red dams. *Meat Sci* 2004; 67: 463—70.
17. Özlütürk A, Güler O, Yanar M, Akbulut Ö, Ünlü N, Kopuzlu S, Biberöglü Ö. The Effect of initial age of fattening on the fattening performans and carcass traits of Eastern Anatolian Red cattle reared in eastern Turkey. *J Anim Vet Adv* 2006; 5: 566-9.
18. Pala A, Mccraw RL, Robison OW. Evaluation of crossbred calf and cow types for the coastal plain of North Carolina. *J Anim Sci* 2000; 78: 2253-6.
19. Pfuhr R, Bellmann O, Kühn C, Teuscher F, Ender K, Wegner J. Beef versus dairy cattle: a comparison of feed conversion, carcass composition, and meat quality. *Arch Tierz* 2007; 50(1): 59-70.
20. Sas®. SAS Institute Inc, SAS OnlineDoc®, Version 8 Cary NC USA 1999.
21. Sharma S. Applied multivariate techniques. John Wiley, Sons, Inc New York USA 1996; 472.
22. Ulutaş Z. Akbulut Ö, Tüzemen N, Özlütürk A, Yalçın C. Saf ve melez Doğu Anadolu Kırmızısı erkek tosunlarının besi performansı üzerine bir araştırma. *Lalahan Hay Araş Enst Derg* 1994; 34: 90-102.
23. Zar JH. Biostatistical analysis. Fourth Edition Prentice-Hall Inc USA 1999; 683.

**Yazışma Adresi:** Dr. Sedat Hamdi KIZIL  
Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü  
06852 Lalahan-Mamak/ANKARA  
Tel: 0 312 8651196/194  
Cep: 05336651332  
Faks: 0 312 8651112  
**E- mail:** sedathkizil@hotmail.com



## Kayseri Folklorunda Hayvanlar İle İlgili İnanışlar Üzerine Bir Değerlendirme

Rahşan ÖZEN<sup>1</sup>, Erhan YÜKSEL<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Veteriner Hekimliği Tarihi ve Deontoloji Anabilim Dalı, Elazığ- TÜRKİYE

<sup>2</sup> Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Veteriner Hekimliği Tarihi ve Deontoloji Anabilim Dalı, Kayseri- TÜRKİYE

**Özet:** İnanışlar, halk kültürünün en önemli öğelerinden olup toplumların sosyal ve kültürel yapısını büyük ölçüde yansıtır. Veteriner hekimliği folklorunun ana çalışma konularını oluşturan hayvanlara ve hayvancılığa ait uygulamalar, halk inanışları içerisinde önemli bir yer tuttuğundan, bu alanda yapılacak çalışmalar toplumların sosyo-kültürel yapısının tanınması ve tanımlanması açısından vazgeçilmez niteliktedir. Bu çalışmada, Anadolu'nun en eski yerleşim merkezlerinden biri olan Kayseri'de, hayvanlarla ilgili halk inanışlarının derlenmesi ve bu inanışların kökenlerine ulaşılması amaçlandı. Bu amaçla, Kayseri ve çevresinde yaşayan 50 kişiyle görüşüldü. Elde edilen bulgular "içerik analizi" yöntemiyle değerlendirildi. Verilerin analizi sonucunda, kötü ruhların, hayvan biçimine girerek, eski evlerin mahzenlerinde ev sahiplerine görüldüğü; keçi veya dana derisinden yapılan teflerin duvara asılarak o eve kötü ruhların girmesinin engellenmesine çalışıldığı; yılan öldürülüp yakıldığında mutlaka yağmur yağmaya başladığı; Akkaraman sürüsüne birkaç adet kara koyun bırakılmasının nazara karşı koruma sağladığı şeklinde bulgulara ulaşıldı. Sonuç olarak, Kayseri folklorunda sözlü kaynaklardan derlenen hayvanlarla ilgili inanışların kökenlerinde hem Orta Asya'nın hem de Anadolu'nun inanç ve kültür yapısının izlerinin bulunduğu ileri sürülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Folklor, inanışlar, Kayseri, veteriner hekimliği folkloru

### An Assessment of Beliefs on Animals in Kayseri Folklore

**Summary:** Beliefs are among the main components of folk culture, and reflect, to a great extent, the social and cultural structure of the society. Animals and practices applied in animal breeding as the core subjects of veterinary folklore possess an important role for folk beliefs. Thus, conducting research in this field is essential to the understanding and description of the socio-cultural structure of the society. This study was aimed at the compilation of folk beliefs about animals in Kayseri province, one of the oldest settlement areas of Anatolia. It was also sought to discover the origin of the beliefs maintained in this area. For this purpose, 50 people residing in Kayseri province and its vicinity were interviewed in person. The findings obtained were assessed, using the "content analysis" method. Data analysis demonstrated that the folk believed that the evil spirits disguised in the form of animal body appeared to the house owner in the cellar of old houses; that the entry of evil spirits into a house could be prevented by hanging tambourines made of goat or calf skin on the walls of the house; that it would start raining when a snake was killed and burnt; and that a few black sheep included in a flock of Akkaraman sheep ensured protection against the evil eye. In conclusion, beliefs on animals in Kayseri folklore, which were compiled from oral sources, were ascertained to have their roots in the beliefs and culture structure of both Central Asia and Anatolia.

**Key Words:** Beliefs, folklore, Kayseri, veterinary folklore

### Giriş

İnanışlar, halk kültürünün en önemli öğelerindedir (10). Kaynağını halkın geçmişinden, kültüründen, hatta yaşadığı coğrafyadan alan halk inanışları, bir halkın, en erken dönemlerinden başlayarak ortaya çıkan düşünce şeklini, çevre ve doğa ile olan geleneksel bağlarını göstermektedir. Bu nedenlerle de ait oldukları toplumun kimliğini ve karakteristik özelliğini yansıtır (14). Toplumlar, kültürlerinden gelen çeşitli inanış ve pratikleri gündelik yaşam

içerisinde uygulamaya ve yaşatmaya devam ederler (4). Veteriner hekimliği folklorunun ana çalışma konularını oluşturan hayvanlara ve hayvancılığa ait uygulamalar, halk inanışları içerisinde önemli bir yer tutmaktadır (9, 16). Bu alanda yapılacak çalışmalar bir toplumu yakından tanımak ve doğru anlamak için önemli ipuçları sunar (4).

Anadolu, yüzyıllar boyu birçok uygarlığa ev sahipliği yapmıştır. Türkler Anadolu'ya yerleştikten sonra hem kendilerinden önce burada yaşamış olan toplulukların hem de birlikte yaşadıkları diğer toplulukların kültürlerinden bazı unsurları kendi kültürlerine katmışlardır. Uygarlıklar arasında kaçınılmaz bir olgu olan bu kültürel etkileşim, halk inanışları alanında da

Geliş Tarihi / Submission Date : 15.07.2013

Kabul Tarihi / Accepted Date : 01.01.2013

\*Bu çalışma, 22-25 Mayıs 2013 tarihinde Gaziantep'te "VIII. Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Günleri"nde aynı adlı sunulan ve özeti yayımlanan bildirinin genişletilmiş halidir.

kendini göstermiş; Anadolu topraklarında hayvanlar ile ilgili çok sayıda ve farklı inanışın doğmasına ve yayılmasına neden olmuştur (27, 28).

Çalışmada, Kayseri ve çevresinde hayvanlar ile ilgili inanışları derlemek, bu inanışların kökenlerine ulaşmak, bu sayede genelde Türk folkloruna ve özelde veteriner hekimliği folkloruna katkı sağlamak amaçlandı.

## Gereç ve Yöntem

Araştırmanın verilerini, Kayseri’de yaşayan kaynak kişilerden derlenen hayvanlar ile ilgili inanışlar oluşturmuştur. Bu amaçla Kayseri ve çevresinde 50 kişiyle Ocak – Aralık 2011 tarihleri arasında görüşüldü. Derlenen inanışlar “Bulgular” kısmında verildi. Her inanışın sonunda kaynak kişiler dipnot olarak eklendi. Elde edilen bulgular “içerik analizi” yöntemiyle değerlendirildi.

## Bulgular

### Nazar ile ilgili inanışlar

At kafası nazar için evin girişine asılır. <sup>1-2,8-11,13,16-20,22-26,30-36,38,40,42,43</sup>

Keçi kafası nazar için evin girişine asılır. <sup>1-9, 12,16,22,24,28-31,33-36,39-41</sup>

Köpek kafası nazar için evin girişine asılır. <sup>6,8,10,20-22,24-26,29,31,40</sup>

İnek kafası nazar için evin girişine asılır. <sup>1-2,4-6,9-10,12-34,36-43,45</sup>

Evin kapısına geyik boynuzu veya kaplumbağa kabuğu koymak uğur getirir. <sup>1,3,9-10,29-30,39</sup>

Hayvanların bulunduğu ahırın kapısına at kafası asılır. <sup>2-3,7-8,10,13,25,32,40-41,43,46-47</sup>

Hayvanlara nazar değmesin diye göğ (mavi) boncuk takılır. <sup>1-45</sup>

Gebe hayvana nazar değmesin diye göğ (mavi) boncuk takılır. <sup>1-48</sup>

Akkaraman sürüsüne nazara karşı birkaç adet kara koyun bırakılır. <sup>1,3-4,6,19-22,25,29-31,36,40-42</sup>

Yeni satın alınan hayvan eğer hasta olursa sahibinin gözü kalmış denir. <sup>1-3,9,12,15-16,18,20,29-30,32,35,37,39,42</sup>

Ahıra girenlerin hayvana nazar değdirmemesi için ahırda güvercin beslenir. <sup>2,9,11,16,25,50</sup>

Koç katımında koçlara nazar değmesin diye kına yakılır. <sup>1-45</sup>

Kuzular satılincaya kadar başkasına gösterilmez. <sup>1-4,17,46</sup>

Kimse başkasının ahırına işi olmazsa girmez. Has-talıklardan sorumlu tutulup nazarın değdi denmesin diye! <sup>1-2,4-5,7,16-17,29-30,33,39-40,42-43</sup>

İkiz doğuran inekten bahsedilirken sessiz konuşulur. <sup>10</sup>

### Su ile ilgili inanışlar

Yeni doğum yapan hayvanın ilk sütü akarsuya dökülür. <sup>3-7,12,14,18,22-26,35,37-40,42</sup>

Yeni doğum yapan hayvanın eşi akarsuya atılır. <sup>3-7,12-14,18-19,22-24,35,37-42,46</sup>

### Kötü ruhlar ile ilgili inanışlar

Eski evlerin mahzeninde/kilerinde kötü ruhlar hayvan şeklinde insana görünür. <sup>49</sup>

Üç harfliler hayvan suretinde görünür. <sup>2-5,9-10,15-18,20,22-23,29-30,32,40-41</sup>

Keçi veya dana derisinden yapılan tefler duvara asılırsa o eve kötü ruhların girmesi engellenir. <sup>49</sup>

### Yağmur ile ilgili inanışlar

Yılan öldürülüp ateşte yakılırsa mutlaka yağmur yağmaya başlar. <sup>9-12,14-16,18,20,22-26,28,30,33,37,40-43</sup>

Kurbağalar öterse yağmur yağar. <sup>2,4,7,9,12-14,18,20,21-26,29-33,37,42</sup>

Kurbağaların ötüşüne yağmur duası yapıyor denir. <sup>2,4,12-13,18,29-32,35,37,42</sup>

### Uğur ve uğursuzluk getiren hayvanlar ile ilgili inanışlar

Arabanın veya insanın önünden tavşan geçerse uğursuzluk getirir. <sup>1-13,18-23,26-32,36-47,50</sup>

Arabanın veya insanın önünden tilki geçerse uğur getirir. <sup>1-13,18-23,26-32,36-47,50</sup>

Tavşan ayağı bulunduğu eve uğur getirir. <sup>1,3,7,8,12,14,18,43,48</sup>

Evide tavşan beslemek yoksulluk, uğursuzluk getirir. <sup>2,8-9</sup>

### Ev iyesi ile ilgili inanışlar

Koç katımı zamanı yün tarağı komşuya verilmaz. <sup>1-6,8,18,20-23,25-26,35,37,40,45,48</sup>

### Tartışma ve Sonuç

Kayseri ve çevresinden kaynak kişilerden derlenen hayvanlar ile ilgili inanışlar incelendiğinde özellikle nazar ile ilgili inanışların ön plana çıktığı görülmektedir. Yörede nazardan korunmak için çeşitli hayvanların kafataslarının (inek, keçi, at, köpek), geyik boynuzunun, kaplumbağa kabuğunun evlerin veya ahırların girişlerine asıldığı, ayrıca hayvanlara özellikle de gebe hayvanlara nazar değmesini önlemek amacıyla “göğ” (mavi) boncuk takıldığı bildirilmiştir.

Bütün toplumlarda yaygın olarak karşılaşılan kötü göz, kötü enerji, kötü bakış, kötü ruh en nihayetinde nazar olarak nitelendirilebileceğimiz inancın kökeni, aslında Neolitik çağlara kadar uzanmaktadır (7,15). Eskiçağ Anadolu uygarlıklarından, özellikle Hitit ve Urartularda tanrılar iyilik ve kötülük tanrıları olarak adlandırılmaktadır. İyilik tanrılarının buyruğunda iyilik, kötülük tanrılarının buyruğunda da kötülük güçleri vardır. Bu güçler sürekli savaş halindedir. İnsanlar, kötü güçlerden iyilik tanrılarının güçlerine sığınır ve bu tür tanrıların, bazı doğa varlıklarında yansıdığı kabul edilir. İşte kötü tanrılardan ve ruhlardan korunmak

için iyi tanrının uğurlu sayılan yansıtıcılarını insanın üstünde taşıması ya da evlerin belli yerlerine asılması gerekir (19). Bugün çeşitli hayvanlara ait boynuz, kemik, kabuk, kafatası gibi nesnelere ev ve ahır kapılarının üzerine asılmalarının bu Eskiçağ Anadolu inancından kaynaklandığı ileri sürülmektedir (7, 13, 19, 22, 27). Nitekim, bunların, kötü ruhlarla karşı koruyucu araçlar, iyilik sağlayıcı nesnelere olduğu kabul edilmektedir (19). Nazara karşı koruyucu olarak kullanılan objelerin yörede yaygın bir şekilde bilinmesi, Eski Çağ Anadolu inancının bugün kadar hala yaşatıldığına canlı bir göstergesi olarak kabul edilebilir. Nazara karşı mavi boncuk kullanımı da, Türklerin eskiden beri uyguladıkları bir yöntemdir. Eski Türkler "boncuk" veya "moncuk" adını verdikleri değerli ve tılsımlı taşı, kişinin veya atın boynuna, hatta sancağın tepesine takarak kötü ruhlardan ya da kötü gözlerden korunmak istemişlerdir (20, 22). Bu koruyucu boncuğun mavi olması; Türkler arasında mavi gözlü kişilere çok seyrek rastlanması ve mavi gözlerin olağanüstü güce sahip olduğuna inanılmasıyla ilgilidir (20). Kayseri'de hayvanlara nazar değmesini önlemek amacıyla mavi boncuk takılması, kökeni Eski Türk toplumlarına dayanan bu geleneğin hala yaşatıldığına bir göstergesidir.

Halk arasında kıskançlık dolu ya da kötü niyetli bir bakışın etkisini ortadan kaldırmak için yaygın olarak "nazar boncuğu" kullanılmaktadır. Boncuğun özellikle göz şeklinde olması; Frazer'in büyü kanunlarından biri olan "benzeşim kanunu" ile açıklanabilir. İlkel insanların birbirine benzer şeylerin aynı olduğunu düşünüp korunma çareleri olarak aynısını ya da benzerini kullanmaları, eşyanın veya canlıların benzerine yapılan bir şeyin aslı üzerinde de aynı etkiyi bırakacağına inanmaları, büyücülüğün benzeşim kanunu olarak tanımlanabilir (15). Bazı nesnelere, buldukları ortamda insanın bakışını ilk olarak üzerlerine çekecekleri için gözdeki enerjinin o nesnelere aktarılarak diğer insan ve canlıların korunmuş olacağı düşüncesini (32) destekleyen "Ahıra girenmiş hayvana nazar değdirmemesi için ahırda güvercin beslenir", "Akkaraman sürüsüne nazara karşı birkaç adet kara koyun bırakılır" gibi inanışlara Kayseri folklorunda da rastlanıldığı söylenebilir.

Bilindiği gibi Türk inanç sisteminde "yer-su" iyeleri kutsaldır (8, 22, 30). Su, Türk toplumlarının yaşam, bereket kaynağı ve gücüdür (6, 22). Akarsular, halk inanışları çerçevesinde kutsal sayılan ve adakta bulunan unsurlardır (23). Baharda sürüden sağılan ilk süt "onun da hakkı vardır" düşüncesi ile akarsuya dökülmektedir. Bu şekilde, hem hayvanlardan elde edilecek sütün yağlı ve bereketli hem de hayvanların sağlıklı ve kuvvetli olması sağlanmaya çalışılmaktadır (6, 8). Kayseri'de rastlanan ve benzer bir uygulama olan ağız sütünün (kolostrom) akarsuya atılmasının da hayvanın sütünün bol ve bereketli olmasını

sağladığı inancından kaynaklandığı ileri sürülebilir. Eski Türk geleneğinde Umay, bütün canlıların yavrularını büyüünceye kadar korumak ve kollamakla görevli koruyucu iyelerden biridir. Doğu Anadolu'da doğumdan sonra eşin (plasenta), temiz ve ıssız bir yere gömülerek Umay iyesine bu şekilde saygı gösterildiği bildirilmiştir (22). Yörede doğum yapan hayvanın eşinin (plasentasının) de akarsuya atılması bu uygulamanın farklı bir biçimde sürdürüldüğünün işareti olarak kabul edilebilir.

Kötü ruhlar ile ilgili inanışlar hemen hemen tüm toplumlarda görülmektedir. Bu inanışlarının kökenleri incelendiğinde, Türk inanç sisteminde var olan iyi ve kötü ruhların, günümüzdeki bu inanışın ve uygulamaların en eski kalıntıları olduğu anlaşılmaktadır (17). Eski Türk inanç sisteminde, ölen kişilerin ruhlarının karanlık âleminde yaşayan ve yeraltı dünyasının sahibi Erlik'in zümresine katıldığı kabul edilmektedir. Ancak, bu ruhlar zaman zaman değişik şekil ve suretlerde görünerek insanlara kötülüklerde bulunabilmektedirler (8). Eşek, köpek, domuz, keçi, kara kedi, yılan gibi çeşitli hayvanların kılığına giren cin ve kötü ruhlar bilinmektedir (17). Kayseri'de varlığını hala sürdüren bu inanışın kökeninin de Orta Asya'ya dayandığı söylenebilir. Benzer şekilde Eski Türk inanç sistemi incelendiğinde görülmüştür ki inananları kötü ruhlardan sadece, ateşin alevi, şamanın tefi ve şaman giysisindeki nesnelere yüksek sesi koruyabilir (5). Bugün Kayseri'de çeşitli hayvan derilerinden yapılan teflerin duvara asılması, Eski Türklerde Şamanın kötü ruhları ve bunların neden olduğu felaketleri uzaklaştırmak için tef eşliğinde yaptığı ritüelin (1, 26) günümüzde farklı bir şekilde varlığını sürdürmesinin bir göstergesi olarak değerlendirilebilir.

Eski Türk toplumlarının hayatında yağmur da hayatın ve bereketin kaynağıdır. Yağmur yağmadığı dönemlerde "kam" adı verilen kimselerin "yada/cada taşı" ile yağmur yağdırabildiklerine inanılırdı (22). Anadolu'nun çeşitli yerlerinde ve Türkmenistan'da yağmur yağdırılmasına ilişkin uygulamalar arasında yılan öldürülüp ateşe atıldığı bilinmektedir (2, 7, 8, 25, 27). Moğollarda ve Orta Asya'da yağmur yağdırma taşı olarak bilinen "yada / cada"nın bazı hayvanlarda ve yılanın başında bulunduğu inanılmaktadır (8, 11, 30). Yılan yağmurun yağmasını önleyen bir engeldir. Yılan yakıldığında "yada" taşı ortaya çıkacak ve bu engel ortadan kalkmış sayılacaktır (3, 8, 32). Yörede saptadığımız bu inanışın; Orta Asya'daki yağmur yağdırma ritüelinin, benzer şekilde hala Kayseri'de uygulandığının somut bir örneği olduğu kabul edilebilir. Eski bir Türk rivayetine göre: "Yer, bir kurbağanın üzerindedir. Kurbağa kımıldanırsa tufan olur". Eski bir zamanda bu kurbağa kımıldamış ve yeryüzünün ulu denizi dalgalanmış, kaynar gibi olmuş, tufan olmuştur (21). Türkiye'de yağmur duası ritüellerinde,

kurbağanın üzerine su dökülerek bağırmasının yağmur yağdıracağı inancı yaygındır (3, 27). Acıpayamlı'ya (3) göre kurbağanın su ile yakınlığı nedeniyle, üzerine su dökülmesiyle yağmur yağışının ufak bir ölçüde taklidi yapılmak istenmektedir. Sihrin taklit prensibi olarak bilinen bu durumda, bir olayı meydana getirmek için onun -şu veya bu şekilde- taklidi yapılması gerekir. Anadolu'nun çeşitli yörelerindeki örneklerine (3) benzer şekilde Kayseri'de de kurbağa ile yağmurun ilişkilendirildiği söylenebilir.

Uğur ve uğursuzluk getirdiği düşünülen hayvanlar arasında tavşan ve tilki göze çarpmaktadır. Anadolu halk inanmalarının genelinde yolculuk esnasında kurt, tilki gibi eti yenilmeyen hayvanların araç ve şahısların önünden geçmesinin uğurlu, tavşanın ise uğursuz olduğu kabul edilir (23, 31). Altaylar ve Yakutların, totemleri arasında tilkinin yer alması onun eski çağlarda ata simgesi olduğuna işarettir (34). Tilki, Eski Türklerde (Kırgızlar, Kazaklar ve Yakutlar) ve Moğollarda "eş-ruhlar" inancı nedeniyle kutsal bir hayvandır (8, 17, 29). Bektaşiler, tilkinin Hızır olabileceğine inanırlar ve tilkinin uğurlu bir hayvan olduğunu kabul ederler (24, 27). Yörede saptadığımız tilki ile ilgili bu inanışın kökenlerinin Orta Asya'ya ve Bektaşî kültürüne dayandığı ileri sürülebilir.

Tavşan, Türk kültür hayatının sembolü olan hayvanlardan biridir. Bazı Türk boylarında, ailenin koruyucusu olarak görülen, töz adı verilen özel ruh olarak benimsenen, kamların kötü ruhlarla mücadelelerinde ona yardım eden, 12 hayvanlı Türk takviminde yer alan tavşan ile ilgili farklı görüşler bulunmaktadır (18). Alevi - Bektaşî geleneğinde tavşanın, başı kediye, kulakları eşeğe, burnu fareye ve ayakları köpeğe benzetildiği ya da adet gördüğü, geviş getirmedeği, çift tırnaklı olduğu gibi çok çeşitli nedenlerden dolayı eti yenilmez.

Tavşan, Yakutlarda kuraklığın habercisidir (18, 31). Tatar Türklerinin ise tavşan yılında kıtlık olacağına inandıkları bilinmektedir (18, 33). Tavşanın, eski bir Türk totemi olması nedeniyle sevilen ve saygı duyulan yönlerine karşın, beğenilmeyen taraflarının da bulunduğu ve zamanla bu beğenilmeyen taraflarının ağır basmış olabileceği ileri sürülmektedir (18) Bu yüzden yolculuk sırasında veya ava giderken kişinin önünden tavşan geçtiğinde uğursuzluk getirdiği inancı ortaya çıkmış ve kabul görmüş olabilir.

Türkler, kutlu hayvanların bazı organlarının tek başlarına da bereket taşımaya devam ettiklerine inanırlar. Tavşanın kuyruğu, ayakları, kafası ve postu çeşitli ritüellerde bu anlamda kullanılır. Tavşan ayağı da, kutlu iyelerin tavşan kılıfına girmelerinden kaynaklı görüşe göre bereket sağlamak için kullanılan bir parçadır (18). Yörede tavşanın uğursuz olarak kabul edilmesine karşın ayağının evde

bulundurulması ve zaman zaman temizlik ya da mutfak işlerinde kullanılmasının Eski Türk toplumları kaynaklı, eve bereket sağlama amaçlı olabileceğini akla getirmektedir.

Türkler, içinde yaşadıkları, hayatlarını sürdürdükleri çadırın veya evin bir iyesi olduğunu kabul ederler. Ev iyesinin etkisi, evin veya çadırın hudutları içerisinde. Bu iye, orada yaşayanları dış tehlikelerden korur, bu yüzden memnun edilmesi ve kızdırılmaması özen gösterilir. Ev iyesiyle ilişkili inanışların Anadolu'nun farklı bölgelerinde farklı pratiklerle yaşatıldığı bilinmektedir. Anadolu'nun çeşitli coğrafyalarında eşikte oturmak, eşiğe basmak, ev iyesinin eşikte olabileceği ve incinebileceği düşüncesiyle iyi karşılanmaz. Erzurum'da akşamları ev dışına maya; Ağrı, Elazığ ve Diyarbakır'da da ateş, ekşi hamur, tuz, iplik gibi nesnelerin verilmesi halinde uğursuzluk getireceği ve evin bereketinin kaçacağı (22) şeklindeki inanışlar da ev iyesinin hoşnut tutulması ile ilişkilendirilmektedir.

Kayseri'de rastlanan benzer bir inanışa göre ise koç katımı zamanında yün tarağının komşuya verilmesi iyi sayılmaz. Bu inanışın temelinde ise, tarağın kötü niyetli insanların eline geçmesini önlemenin ya da bir başka ifadeyle bir temas büyüsu girişimini engellemenin olduğu ileri sürülmektedir (12). Buradan yola çıkılarak, Kayseri yöresinde yün tarağının ev dışına verilmek istenmemesi şeklindeki uygulamanın, Eski Türk toplumlarındaki ev iyesi inancının günümüzde yaşayan somut bir göstergesi olduğu düşünülebilir.

Sonuç olarak, Kayseri folklorunda yer alan ve halkın gündelik yaşamında varlığını hala sürdürdüğü gözlenen hayvanlarla ilgili inanışların kökenlerinde hem Orta Asya'nın hem de Anadolu'nun inanç ve kültür yapısının izlerinin bulunduğu ileri sürülebilir.

## Kaynaklar

1. Abudukelimi B. Uygur Türklerinin Dinî İnanışları. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniv. Sosyal Bilimler Enstitüsü, Felsefe ve Din Bilimleri (Dinler Tarihi) Programı. Ankara- Türkiye, 2006.
2. Acıpayamlı O. Türkiye'de yağmur duası ve psiko-sosyal metot'la incelenmesi. DTCFD 1963; 21(1-2):1-39.
3. Acıpayamlı O. Türkiye'de yağmur duası II. DTCFD 1964; 22(3-4):221-50.
4. Akbay OH. "Tohno Hikâyeleri"nde geçen halk inanışları üzerine bir değerlendirme. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi 2012; 4(6):87-107.
5. Akgün E. Şamanist Türk halklarında kurban sungusu ve kendisine kurban sunulan varlıklar. Türk Dünyası Araştırmaları 2008; (172):21-32.



6. Akman E. Türk ve dünya kültüründeki su kültürüne düşünceler. Kastamonu Eğitim Dergisi 2002; 10(1):1-10.
7. Alp KÖ. Orta Asya'dan Anadolu'ya Kültürel Sembollere Giriş. Ankara: Eflatun Yayınevi, 2009; s. 38, 39, 51, 55.
8. Araz R. Harput'ta Eski Türk İnançları ve Halk Hekimliği. Ankara: Levent Ofset, 1995; s.54,77, 151,155.
9. Arslan ES. Ege Bölgesi Folklorunda Veteriner Hekimliği ve Hayvancılık Üzerine Araştırmalar. Doktora Tezi. Ankara Üniv. Sağlık Bilimler Enstitüsü, Veteriner Hekimliği Tarihi ve Deontoloji Programı. Ankara-Türkiye,1998.
10. Artun E. Tekirdağ'da batıl inanışlar. Tekirdağ Halk Kültürü Araştırmaları 1998; (1):66-83.
11. Buluç S. Şaman. MEB İslam Ansiklopedisi Cilt XI. İstanbul; 1970; s.327.
12. Çalışkan Z. Sarız ve Çevresinde Yaşayan Avşarların Örf ve Adetlerinde Dini Unsurların Sosyolojik Tetkiki. Yüksek Lisans Tezi. Erciyes Üniv. Sosyal Bilimler Enstitüsü, Din Sosyolojisi Programı. Kayseri-Türkiye,1992.
13. Çay AM. Türk Milli Kültüründe Hayvan Motifleri I (Koyun ve Keçi etrafında oluşan gelenekler). Ankara: Türk Kültürünü Araştırma Enstitüsü Yayınları, 1990; s.62.
14. Çetin ÇZ. Tatar Türklerinde mitolojik varlıklarla ilgili mitler ve inanışlar (iyeler ve yaratıklar). Bilig 2007; (43):1-32.
15. Çıblak N. Halk kültüründe nazar, nazarlık inancı ve bunlara bağlı uygulamalar. Türklük Bilimi Araştırmaları 2004; (15):103-25.
16. Dinçer F. Türk Folklorunda veteriner hekimliği (beş doğu ilimizde yeni örnekleriyle). I. Uluslararası Türk Folklor Kongresi. 23-30 Haziran 1975; Ankara-Türkiye.
17. Duvarcı A. Türklerde tabiat üstü varlıklar ve bunlarla ilgili kabuller, inanmalar, uygulamalar. Bilig 2005; (32):125-44.
18. Ergun P. Alevilik -Bektaşilikteki tavşan inancının mitolojik kökenleri üzerine. Türk Kültürü ve Hacı Bektaş Veli Araştırma Dergisi 2011; (60):281-312.
19. Eyuboğlu İZ. Anadolu İnançları. İstanbul: Derin Yayınları, 2007; s.132.
20. İnan A. Nazarlıklar. Türk Folklor Araştırmaları.1963; 8 (169):3138.
21. İnan A. Tarihte ve Bugün Şamanizm (Materyaller ve Araştırmalar). Ankara:Türk Tarih Kurumu Basımevi, 1986; s. 23.
22. Kalafat Y. Doğu Anadolu'da Eski Türk İnançlarının İzleri. Ankara: Türk Kültürünü Araştırma Enstitüsü Yayınları, 1990; s. 22, 43, 50, 56, 77,97,98.
23. Kalafat Y. Türk Halk İnançlarında Tabu. Ankara: Berikan Yayınevi, 2012; s.68, 122, 123.
24. Kılıç A. Isparta yöresi halk inançları. Uluslar arası Anadolu İnançları Kongresi. 23-28 Ekim 2000; Ürgüp (Nevşehir)-Türkiye.
25. Kılıç S. Uşak ve çevresinde yağmur yağdırma uygulamaları (Takmak köyü örneği). Turkish Studies 2011; 6(1): 495-506.
26. Labecka-Koecherowa M. Şaman ayini- yeniden yapılanma deneyi. Tiyatro Araştırmaları Dergisi 1995; (12):77-98.
27. Mollaibrahimoğlu Ç. Anadolu Halk Kültüründe Hayvanlar Etrafında Oluşan İnanç ve Pratikler. Yüksek Lisans Tezi. Karadeniz Teknik Üniv. Sosyal Bilimler Enstitüsü, Türk Dili ve Edebiyatı Programı. Trabzon-Türkiye, 2008.
28. Oğuz, ÖM, Oral Z. 2004, Türkiye'de 2004 yılında yaşayan halk inanışları: nesnelere ve uygulamalar. <http://www.thbmer.gazi.edu.tr/yayinlar/pdf/inanis.pdf>; Erişim tarihi: 10.5.2009.
29. Ögel B. Türk Mitoloji I. Cilt. İkinci Baskı. Ankara: TTK Basımevi, 1993; s.560.
30. Ögel B. Türk Mitoloji II. Cilt. Ankara: TTK Basımevi, 1995; s.275, 326,327.
31. Roux JP. Orta Asya'da Kutsal Bitkiler ve Hayvanlar. İstanbul: Kabalıcı Yayınevi, 2005; s.76, 80.
32. Tatlıoğlu D. Türkmen ırımları (Halk inançları). Cumhuriyet Üniv. İlahiyat Fak. Dergisi 2000; 4(1):151-66.
33. Tavkul U. Kültürel etkileşim açısından On İki Hayvanlı Türk Takviminin yayılışı. Modern Türklük Araştırmaları Dergisi 2007; 4(1):25-45.
34. Yıldız ŞN. Türk Halk Anlatılarında Hayvan Motifleri. Yüksek Lisans Tezi. Fırat Üniv. Sosyal Bilimler Enstitüsü, Türk Dili ve Edebiyatı Programı. Elazığ-Türkiye, 2011.

#### Kaynak Kişiler

1. Mustafa ÇİMEN, 1977, Üniversite Mezunu, Veteriner Hekim, Tomarza
2. Fatih KÖSE, 1976, Üniversite Mezunu, İnşaat Mühendisi, Başakpınar/Talas
3. Yılmaz DOĞAY, 1972, Ortaokul Mezunu, Çiftçi, Başakpınar/Talas
4. Sezai YAZGAN,1937, Okuryazar Değil, Marangoz, Başakpınar/Talas
5. Süleyman KANDAĞI, 1935, Okuryazar Değil, Serbest Meslek, Başakpınar/Talas

6. Mehmet ÖZTÜRK, 1950, Ortaokul, Çiftçi, Merkez/Sarız
7. Ahmet KILAVUZ, 1958, Okuryazar Değil, Çiftçi, Merkez/Tomarza
8. Ayhan KISA, 1947, İlkokul Mezunu, Esnaf, Tavlasun
9. Aziz AKTAŞ, 1964, Lise Mezunu, Çiftçi, Yukarı Borandere Köyü/Pınarbaşı
10. Sıtkı ÇALIK, 1951, İlkokul Mezunu, Çiftçi, Esenköy/Pınarbaşı
11. Mehmet KURTAR, 1953, İlkokul Mezunu, Çiftçi, Büyük Tuzhisar/Bünyan
12. Mehmet ÖNER, 1946, İlkokul Mezunu, Çiftçi, Esenköy/Pınarbaşı
13. Gürsel ÇETİNKAYA, 1965, İlkokul Mezunu, Çiftçi, Kahvecioğlu Köyü/Bünyan
14. Kürşat ERKEK, 1979, Üniversite Mezunu, Çiftçi, Merkez/Sarız
15. Basri KÖKOĞLU, 1959, Lise Mezunu, İşletmeci, Yaylacı Köyü/Sarız
16. Muhsin TANRIVERDİ, 1951, İlkokul Mezunu, Çiftçi, Yıldırım Köyü/Sarioğlan
17. Mustafa YAMAN, 1964, İlkokul Mezunu, Çiftçi, Yıldırım Köyü/Sarioğlan
18. Faysal KIRAÇ, 1969, İlkokul Mezunu, Çiftçi, Kahveci Köyü/Bünyan
19. Dursun EROĞLU, 1961, Ortaokul Mezunu, Çiftçi, Kahveci Köyü/Bünyan
20. Doğan ÇALIK, 1977, Lise Mezunu, Çiftçi, Saçlı Köyü/Pınarbaşı
21. Cuma DURMUŞ, 1952, İlkokul Mezunu, Çiftçi, Saçlı Köyü/Pınarbaşı
22. Yusuf ASLAN, 1950, İlkokul Mezunu, Çiftçi, Saçlı Köyü/Pınarbaşı
23. Ahmet ARSLAN, 1944, İlkokul Mezunu, Çiftçi, Kahveci Köyü/Bünyan
24. Mustafa KIRIKKOY, 1943, İlkokul Mezunu, Çiftçi, Kavlaklar Köyü/Pınarbaşı
25. Reşat ASLAN, 1964, İlkokul Mezunu, Çiftçi, Horsa Köyü/Pınarbaşı
26. Galip METİN, 1973, Lise Mezunu, Çiftçi, Kavlaklar Köyü/Pınarbaşı
27. Cemal KARAKOÇ, 1933, Okur Yazar Değil, Çiftçi, Reşit Köyü/Sarioğlan
28. Nurettin YILDIZ, 1965, İlkokul Mezunu, Çiftçi, Reşit Köyü/Sarioğlan
29. Mustafa ÖZÇELİK, 1951, Okur Yazar Değil, Çiftçi, Çelikkilek/Tomarza
30. Abuzer DOĞAN, 1943, İlkokul Mezunu, Çiftçi, Çalışkan Köyü/İncesu
31. Nihat YILDIZ, 1968, Lise Mezunu, Çiftçi, Çalışkan Köyü/İncesu
32. Kerem SOLAK, 1944, Okur Yazar Değil, Sindehöyük/Develi
33. Ali ÖZDEMİR, 1974, İlkokul Mezunu, Çiftçi, Hoşça Köyü/Develi
34. Mesut ÖZDEMİR, 1980, Lise Mezunu, Hayvan Sağlığı Teknisyeni, Palas/Sarioğlan
35. Murat KIRAÇ, 1951, İlkokul Mezunu, Çiftçi, Merkez/Develi
36. İrfan CULHAOĞLU, 1974, Memur, Merkez/Develi
37. Erhan KURTOĞLU, 1961, İlkokul Mezunu, Çiftçi, Çötel Köyü/Develi
38. Samet AKARSU, 1979, Ortaokul Mezunu, Çiftçi, Soysal Köyü/Develi
39. Yaşar GÜL, 1966, İlkokul Mezunu, Çiftçi, Karaca Ören Köyü/Develi
40. Arif ÖZKALE, 1949, İlkokul Mezunu, Çiftçi, Çayırözü Köyü /Develi
41. Orhan BERK, 1972, İlkokul Mezunu, Çiftçi, Çöten Köyü/Develi
42. Vedat AYDIN, 1969, İlkokul Mezunu, Çiftçi, Hoşça Köyü/Develi
43. Selim YARICI, 1977, Üniversite Mezunu, Veteriner Hekimi, Bakırdağ Beldesi/Develi
44. Okan KAYAALP, 1982, Üniversite Mezunu, Veteriner Hekimi, Merkez/Talas
45. Erdal KARAGÖZ, 1972, Üniversite Mezunu, Memur, Gesi/Melikgazi
46. Abdullah ARI, 1966, İlkokul Mezunu, Çiftçi, Süksün Köyü/İncesu
47. İlyas ÇEKİÇ, 1964, İlkokul Mezunu, Çiftçi, Süksün Köyü/İncesu
48. Sakine ULUHAN, 1943, İlkokul Mezunu, Ev Hanımı, Çanakpınar/Tomarza
49. Münevver KAHRAMAN, 1946, Ortaokul Mezunu, Ev Hanımı, Talas
50. Şuayip ALTEMEL, 1949, İlkokul Mezunu, Esnaf, Akmesic Köyü/Bünyan

**Yazışma Adresi:**

Doç. Dr. Rahşan ÖZEN  
 Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
 Veteriner Hekimliği Tarihi ve Deontoloji Anabilim Dalı  
 23119, Merkez-Elazığ  
 0 424 2370000 - 3997  
 rahsanozen@hotmail.com



## Koyunlarda Phlorizinin Serum Lipid Profili ve Oksidatif Stress Parametreleri Üzerine Etkisi\*

İlknur KARACA BEKDİK, Ali Cesur ONMAZ

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları AD, Kayseri-TÜRKİYE

**Özet:** Bu çalışmanın amacı koyunlarda phlorizin uygulamasının serum lipid profili ve oksidatif stres indikatörleri üzerine etkinliğini araştırmaktır. Çalışmada 10 adet laktasyonda ve gebe olmayan koyun kullanıldı. Phlorizin 100 mg/kg dozunda her koyuna derialtı yolla enjekte edildi. Çalışma öncesi ve sonrasında koyunların canlı ağırlık (CA) ve sırt yağı kalınlığı (SYK) ölçüldü. Çalışmadan önceki (0. saat) ve sonraki 12., 24., 48., 72. ve 120. saatlerde alınan kan örneklerinde hematolojik analizler ve lipid profilini içeren biyokimyasal parametreler ve oksidatif stres indikatörleri analiz edildi. Aynı saatlerde idrar örnekleri de analiz edildi. Histopatolojik muayene için, çalışmadan 24 saat önce ve sonra iki adet koyundan karaciğer biyopsi örnekleri alındı. Çalışma sonucunda, phlorizinin ortalama CA, SYK, total lökosit (WBC), insülin, glukoz, kan üre nitrojen (BUN), kreatinin, trigliserit (TG), alkalin fosfataz (ALP), laktat dehidrogenaz (LDH), total oksidan seviye (TOS) ve oksidatif stres indeksi (OSI) değerlerini önemli ölçüde azalttığı ( $p<0.05$ ) ve ortalama trombosit (PLT), hemoglobin (Hgb), esterleşmemiş yağ asitleri (NEFA) değerlerini ise önemli oranda artırdığı belirlendi ( $p<0.05$ ). İdrar örneklerinde proteinüri ve glikozüri tespit edildi. Histopatolojik muayenede, phlorizin uygulamasından sonra hepatositlerin sitoplazmalarındaki yağ vakuollerinin sayısında azalma görüldü. Bu çalışma koyunlarda phlorizinin antihiperlipidemik, antihiperlipidemik ve antioksidan olarak önerilebileceğini gösterdi.

**Anahtar Kelimeler:** Koyun, lipid profili, oksidatif stres, phlorizin

### The Effects of Phlorizin on Serum Lipid Profile and Oxidative Stress Parameters in Sheep

**Summary:** The aim of this study was analyse the effect of phlorizin application on serum lipid profile and oxidative stress indicators in sheep. Ten non-lactating and non-pregnant sheep were used in this study. Phlorizin was subcutaneously injected at a dosage of 100 mg/kg to each animal. Body weight (BW) and subcutaneous fat thickness (SFT) were measured at the beginning and at the end of the study. Hematological, biochemical parameters including lipid profile, and oxidative stress indicators were analysed in blood samples obtained before (0th hour) and 12., 24., 48., 72. and 120th hours after the study. Urine samples were analysed at the same time intervals. Liver biopsy materials were obtained from two sheep 24 hours before and after the study for histopathological examinations. Results indicate that phlorizin significantly decreased the mean BW, SFT, total leukocyte (WBC), insulin, glucose, blood urea nitrogen (BUN), creatinin, triglyceride (TG), alkaline phosphatase (ALP), lactate dehydrogenase (LDH), total oxidative status (TOS) and oxidative stress index (OSI) values ( $p<0.05$ ), and significantly increased the mean platelets (PLT), hemoglobin (Hgb) and non-esterified fatty acids (NEFA) values ( $p<0.05$ ). Proteinuria and glycosuria were determined in urine samples. Histopathological examinations revealed a progressive decrease in cytoplasmic lipid vacuoles of hepatocytes after phlorizin administration. This study suggests that phlorizin could be proposed as an antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidant agent in sheep.

**Key Words:** Lipid profile, oxidative stress, phlorizin, sheep

### Giriş

Phlorizin elma ağacının kök kabuklarında, sürgünlerinde ve yapraklarında bulunan başlıca fenolik glikozittir (18). Phlorizin ilk kez Fransız kimyagerler tarafından 1835'de elma ağacının kabuğundan izole edilmiştir. (33). Ayrıca Avustralya yerli saparna (*Smilax glycyphylla*) yaprakları (9), tatlı çay (*Lithocarpus polystachyus*) (11) ve çok düşük seviyede çilek meyvesinde (16) de bulunmaktadır.

Phlorizinin başlıca farmakolojik etkisi renal glikozüri oluşturmak ve sodyuma bağlı glikoz transportunu inhibe ederek bağırsaklardan glikoz emilimini bloke etmektedir (13,38). Phlorizinin hipoglisemi ve hipolipemiye yol açmasının (26,39) yanı sıra, lipid peroksidasyonunun önlenmesi (35), kemik erimesinin önlenmesi (34), hafıza gelişimi sağlanması (5,14) ve insan kolon kanser hücrelerinin büyümesinin önlenmesi (37,40) gibi bir seri yeni biyoaktif fonksiyonu rapor edilmiştir (12,40). Phlorizinin sığırlarda (38) ve koyunlarda (7) renal glikoz reabsorpsiyonunu, ratlarda da intestinal glikoz absorpsiyonunu engellemek için kullanıldığı bildirilmektedir (20,22). Mevcut çalışmada, koyunlardaki etki mekanizmaları tam olarak araştırılmamış phlorizinin, hematolojik parametreler,

Geliş Tarihi / Submission Date : 08.11.2013

Kabul Tarihi / Accepted Date : 27.12.2013

\*Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TSD-12-4119 no'lu proje ile desteklenen doktora tezinden özetlenmiştir.

serum lipid profili, oksidatif stres parametreleri, yağlanma (karaciğer, deri altı yağ dokusu) ve insülin hormonu üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlandı.

### Gereç ve Yöntem

Çalışmada, Erciyes Üniversitesi Tarımsal Araştırma ve Uygulama Merkezinden (ERÜTAM) temin edilen ortalama 40.15±8.59 kg ağırlıklarında, 1 yaşlı, gebelik ve laktasyon dönemlerinde olmayan, klinik muayeneleri sonucu sağlıklı oldukları belirlenen 10 adet koyun kullanıldı (Erciyes Üniversitesi HADYEK'in 08.02.2012 tarih ve 12/37 nolu etik kurul kararı). Çalışma süresince koyunlar, 6 kg/baş/gün olacak şekilde arpa, mısır silajı, kuru yonca ve arpa samanı içeren rasyon ile beslendi. Koyunlara yalama taşı şeklinde vitamin-mineral premiksleri ve ad libitum su verildi.

Çalışmada kullanılan koyunlara 0. saatte kan ve idrar örnekleri alınmasını takiben 10 mg/kg dozunda deri altı yolla tek doz phlorizin (etki süresi 3-10 gün) uygulandı. Koyunlardan phlorizin uygulamasından önce (0. saatte) alınan bütün örnekler kontrol grubu olarak değerlendirildi. Çalışmada, 0. saatte ve phlorizin uygulanmasından sonraki 12., 24., 48., 72., 96. ve 120. saatlerde, yem verilmeden önce EDTA'lı, Heparinli ve boş tüplere 9 ml kan örnekleri alındı. Kan örneklerinden çıkarılan serumlarda non-esterified fatty acids (NEFA), beta hidroksi butirik asit (BHBA), asetoasetik asit (AcAc) düzeyleri, total antioksidan seviye (TAS), total oksidan seviye (TOS) ticari test kitleri kullanılarak (Rel Assay Diagnostics, Türkiye) Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA, Bio-Tek, Türkiye) tekniği ile belirlendi.

Oksidatif stres indeksi (OSI) (%) =  $[TOS \text{ (mmol Trolox equivalent/L)} / TAS \text{ (}\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ equivalent/L)}]$  formülü kullanılarak hesaplandı. Glukoz, albumin, kan üre nitrojen (BUN), kreatinin, aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), alkalin fosfat (ALP), gama glutamil transferaz (GGT), laktat dehidrogenaz (LDH), trigliserit (TG), total protein (TP), amilaz, lipaz, yüksek dansiteli lipoprotein (HDL), düşük dansiteli lipoprotein (LDL), parametreleri ise Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı'nda tam otomatik biyokimya oto analiz cihazında (Abbott Architect C 16000, USA) spektrofotometrik olarak, insülin hormonu analizi de tam otomatik biyokimya oto analiz cihazında (Immuno Assay System) (Simens, Immulite 2000XPi, USA) belirlendi. Hematolojik analizler için alınan EDTA'lı kan örneklerinde trombosit (103/ $\mu\text{l}$ ) total lökosit (WBC) (103/ $\mu\text{l}$ ), eritrosit (RBC) (103/ $\mu\text{l}$ ) sayıları, hemoglobin (g/dl) ve hematokrit (%) değerleri kan sayım cihazı (Mindray BC-2800 Vet, China) kullanılarak ölçüldü.

Çalışmada kullanılan koyunlardan 0., 12., 24., 48., 72., 96. ve 120. saatlerde alınan idrar örnekleri manuel test stripleri (Healgen, URS-10T Reagent Strips, USA)

kullanılarak lökosit, dansite, pH, glüköz, protein, kan, bilirubin, urobilinojen ve keton cisimcikleri yönünden değerlendirildi.

Ultrasonografik muayeneler, (Schimatzu 350-A, Japonya) ultrasonografi cihazında 5 MHz'lik konveks transduser kullanılarak yapıldı. Karaciğerin ultrasonografik muayenesi, 11. ve 12. interkostal aralıkta gerçekleştirildi. Ultrasonografik muayenede karaciğerin yapısı, portal ve hepatik venleri, diyaframatik ve visseral yüzeyleri yağlanma yönünden incelendi. Ayrıca bu çalışmada, koyunların sırt bölgesindeki yağlanmayı belirlemek amacı ile 0. saat ve 120. saatlerde 12.-13. torakal vertebralar arasındaki bölgede ultrasonografi aracılığı ile sırt yağı kalınlıkları ölçümü yapıldı.

Karaciğerdeki yağlanmanın derecesini belirlemek için phlorizin uygulamasından 24 saat önce ve çalışma bitiminden 24 saat sonra (144. Saatte) iki adet koyundan analjezi (50 mg dozunda acepromazin) ve lokal anestezi (%2'lik lidokain) sağlandıktan sonra 14G (Egemen International®, Türkiye) biyopsi iğnesi kullanılarak sağ 11. interkostal aralıktan biyopsi örnekleri alındı. Alınan biyopsi örnekleri Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında hematoksilin-eozin (HE) ile boyanarak ışık mikroskopunda histopatolojik olarak incelendi.

### İstatistiksel Analizler

Veriler IBM SPSS Statistics 20 ve SigmaStat 3.5 istatistik paket programları ile değerlendirildi. Verilerin özet gösterimi ortalama  $\pm$  standart hata değerleri olarak verildi. Farkların normalliğine Shapiro-Wilk testi ile bakıldı. İki ölçüm karşılaştırmalarında normal dağılılan veriler için bağımlı örnek t testi, veriler normal dağılmayanlarda Wilcoxon testi kullanıldı. İki den fazla ölçümlerin bulunduğu karşılaştırmalarda normal dağılılan veriler Tek Yönlü Tekrarlı Varyans Analizi, normal dağılmayan veriler Friedman Analizi ile değerlendirildi. Çoklu karşılaştırma testleri olarak parametrik ve parametrik olmayan Student-Newman-Keuls testleri kullanıldı.

### Bulgular

Bu çalışmada kullanılan hayvanların phlorizin enjeksiyonundan sonra (120. saatte) yapılan klinik muayenesinde (genel görünüm, vücutun tutuluşu, kıl örtüsü, lenf yumruları, mukoza muayenesi ve iştah) herhangi bir değişikliğe rastlanmadı. Koyunların 0. saat ortalama canlı ağırlıklarında (40.15±8.59), phlorizin uygulandıktan 120 saat sonra (39.09±8.53) istatistiksel olarak önemli azalma görüldü ( $p < 0.05$ ). Çalışmada, koyunlardan phlorizin uygulamadan önce (0. saat) ve uygulandıktan sonra 12., 24., 48., 72., 96. ve 120. saatlerde elde edilen hematolojik parametreler Tablo 1'de gösterildi.

**Tablo 1.** Çalışmada kullanılan koyunlara (n=10) ait hematoloji değerleri

| Parametreler               | 0.saat<br>$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ | 12.saat<br>$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ | 24.saat<br>$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ | 48.saat<br>$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ | 72.saat<br>$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ | 96.saat<br>$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ | 120.saat<br>$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ | İstatistik<br>Önem<br>Düzeyi |
|----------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|------------------------------|
| WBC (x10 <sup>9</sup> /L)  | 12.7±0.75 <sup>a</sup>              | 12.85±1.31 <sup>a</sup>              | 11.31±1.06 <sup>a</sup>              | 12.11±1.08 <sup>a</sup>              | 13.01±0.90 <sup>a</sup>              | 10.6±0.87 <sup>b</sup>               | 10.7±0.99 <sup>b</sup>                | p<0.01                       |
| RBC (x10 <sup>12</sup> /L) | 9.04±0.37                           | 9.39±0.40                            | 9.059±0.35                           | 8.767±0.43                           | 9.212±0.33                           | 9.0±0.37                             | 9.0±0.57                              | p>0.05                       |
| HGB (g/dL)                 | 9.81±0.30 <sup>bc</sup>             | 10.31±0.33 <sup>ad</sup>             | 9.99±0.28 <sup>ab</sup>              | 9.45±0.26 <sup>ce</sup>              | 9.47±0.24 <sup>cd</sup>              | 9.3±0.24 <sup>ce</sup>               | 9.4±0.24 <sup>c</sup>                 | p<0.001                      |
| HCT (%)                    | 27.78±1.04 <sup>ac</sup>            | 28.83±1.02 <sup>a</sup>              | 27.83±1.10 <sup>ac</sup>             | 27.05±1.34 <sup>bc</sup>             | 28.26±0.92 <sup>ac</sup>             | 27.7±1.13 <sup>ac</sup>              | 28.5±1.10 <sup>ac</sup>               | p<0.05                       |
| MCV (fL)                   | 30.92±0.78 <sup>b</sup>             | 31.23±0.80 <sup>a</sup>              | 30.84±0.80 <sup>b</sup>              | 30.98±0.83 <sup>b</sup>              | 30.85±0.79 <sup>b</sup>              | 30.8±0.80 <sup>b</sup>               | 30.8±0.75 <sup>b</sup>                | p<0.01                       |
| MCH (pg)                   | 10.86±0.17 <sup>a</sup>             | 11.1±0.13 <sup>a</sup>               | 11.02±0.15 <sup>a</sup>              | 10.43±0.12 <sup>b</sup>              | 10.28±0.15 <sup>b</sup>              | 10.4±0.18 <sup>b</sup>               | 10.5±0.19 <sup>b</sup>                | p<0.001                      |
| MCHC (g/dL)                | 35.44±0.86 <sup>a</sup>             | 36.87±0.69 <sup>b</sup>              | 36.18±0.80 <sup>ab</sup>             | 35.2±0.76 <sup>a</sup>               | 34.5±0.75 <sup>a</sup>               | 34.7±0.72 <sup>a</sup>               | 34.3±0.70 <sup>a</sup>                | p<0.001                      |
| RDW (%)                    | 15.78±0.21                          | 15.68±0.26                           | 16±0.32                              | 15.72±0.25                           | 16.07±0.27                           | 16.0±0.26                            | 16.1±0.24                             | p>0.05                       |
| PLT (x10 <sup>9</sup> /L)  | 279.8±41.08 <sup>a</sup>            | 271.9±31.94 <sup>a</sup>             | 368.6±62.97 <sup>a</sup>             | 305.7±36.99 <sup>a</sup>             | 329.3±46.32 <sup>a</sup>             | 431.0±75.62 <sup>a</sup>             | 457.4±63.70 <sup>b</sup>              | p<0.05                       |
| MPV (fL)                   | 4.06±0.06 <sup>a</sup>              | 3.77±0.09 <sup>cd</sup>              | 3.87±0.08 <sup>bc</sup>              | 4±0.06 <sup>ab</sup>                 | 3.89±0.05 <sup>bc</sup>              | 4.0±0.07 <sup>ab</sup>               | 3.9±0.09 <sup>ac</sup>                | p<0.05                       |
| PDW (%)                    | 15.79±0.14                          | 15.82±0.15                           | 14.87±1.04                           | 15.85±0.16                           | 15.69±0.11                           | 15.9±0.15                            | 15.6±0.23                             | p>0.05                       |
| PCT (%)                    | 0.115±0.01                          | 0.103±0.01                           | 0.141±0.02                           | 0.120±0.01                           | 0.129±0.01                           | 0.173±0.03                           | 0.157±0.02                            | p>0.05                       |

a, b, c, d, e: Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05).

Çalışmada kullanılan koyunlardan alınan idrar örneklerinin test stripleri ile muayenesinde lökosit rastlanmadı. Bu çalışmada koyunlardan, phlorizin enjeksiyonundan önce ve enjeksiyondan sonraki

saatlerde alınan serum örneklerine uygulanan ölçümler sonucunda elde edilen biyokimyasal parametreler Tablo 2'de belirtildi.

**Tablo 2.** Çalışmada kullanılan koyunlara (n=10) ait biyokimyasal değerler

| Parametreler        | 0.Saat<br>$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ | 12.Saat<br>$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ | 24.Saat<br>$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ | 48.Saat<br>$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ | 72.Saat<br>$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ | 120.Saat<br>$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ | İstatistik<br>Önem<br>Düzeyi |
|---------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|------------------------------|
| İnsülin (µU/mL)     | 12.23±5.94 <sup>a</sup>             | 11.01±1.55 <sup>a</sup>              | 8.09±2.67 <sup>b</sup>               | 5.89±1.99 <sup>c</sup>               | 5.41±1.52 <sup>c</sup>               | 4.27±1.58 <sup>c</sup>                | p<0.01                       |
| Glikoz (mg/dl)      | 60.1±3.64 <sup>a</sup>              | 51.3±2.96 <sup>b</sup>               | 51.1±1.03 <sup>b</sup>               | 51.9±1.70 <sup>b</sup>               | 56.1±1.78 <sup>b</sup>               | 52.0±1.59 <sup>b</sup>                | p<0.05                       |
| Trigliserit (mg/dl) | 28.4±4.40 <sup>a</sup>              | 23.6±3.15                            | 26.3±3.60                            | 21.6±2.24                            | 20.7±1.73                            | 17.9±1.66 <sup>b</sup>                | p<0.05                       |
| Kolesterol (mg/dl)  | 63.7±3.49                           | 63.8±3.48                            | 64.0±3.96                            | 63.4±4.08                            | 62.9±3.83                            | 67.1±4.38                             | p>0.05                       |
| HDL (mg/dl)         | 33.2±1.54                           | 34.7±1.78                            | 34.5±2.09                            | 33.4±1.83                            | 34.3±1.90                            | 36.1±2.05                             | p>0.05                       |
| LDL (mg/dl)         | 24.818±2.56                         | 24.378±2.48                          | 24.238±2.43                          | 25.675±2.75                          | 24.458±2.30                          | 27.416±2.48                           | p>0.05                       |
| BUN (mg/dl)         | 17.8±1.25 <sup>a</sup>              | 11.5±1.06 <sup>b</sup>               | 15.3±0.94 <sup>a</sup>               | 17.6±0.89 <sup>ac</sup>              | 16.1±0.93 <sup>a</sup>               | 19.6±1.31 <sup>cd</sup>               | p<0.001                      |
| Kreatinin (mg/dl)   | 0.67±0.02 <sup>ac</sup>             | 0.62±0.02 <sup>b</sup>               | 0.68±0.02 <sup>ac</sup>              | 0.66±0.03 <sup>a</sup>               | 0.67±0.02 <sup>ac</sup>              | 0.7±0.02 <sup>c</sup>                 | p<0.01                       |
| Amilaz (U/L)        | 12.8±3.61                           | 12.8±3.49                            | 13.0±3.09                            | 12.2±2.71                            | 13.5±3.17                            | 14.9±4.36                             | p>0.05                       |
| Lipaz (U/L)         | 20.0±1.31 <sup>e</sup>              | 22.5±1.62 <sup>c</sup>               | 24.0±1.95 <sup>b</sup>               | 22.2±2.03 <sup>d</sup>               | 27.2±2.07 <sup>a</sup>               | 21.5±2.52 <sup>de</sup>               | p<0.001                      |
| GGT (U/L)           | 51.6±2.78 <sup>a</sup>              | 51.2±2.62 <sup>a</sup>               | 52.0±2.50 <sup>a</sup>               | 52.3±2.76 <sup>a</sup>               | 54.6±3.05 <sup>a</sup>               | 58.1±3.67 <sup>b</sup>                | p<0.001                      |
| LDH (U/L)           | 714.9±96.61 <sup>b</sup>            | 733.5±74.54 <sup>a</sup>             | 642.5±57.75 <sup>c</sup>             | 622.1±50.55 <sup>c</sup>             | 670.3±79.98 <sup>c</sup>             | 588.8±29.03 <sup>c</sup>              | p<0.01                       |
| AST (U/L)           | 150.1±19.17                         | 153.6±20.63                          | 145.8±18.98                          | 136.5±16.46                          | 153.8±22.17                          | 138.2±17.30                           | p>0.05                       |
| ALT (U/L)           | 27.1±3.42                           | 27.9±3.90                            | 27.6±3.91                            | 26.2±3.32                            | 28.6±3.91                            | 26.3±3.44                             | p>0.05                       |
| ALP (U/L)           | 128.2±13.90 <sup>a</sup>            | 124.1±11.69 <sup>ac</sup>            | 122.4±11.46 <sup>a</sup>             | 107±9.04 <sup>bc</sup>               | 109.6±8.40 <sup>b</sup>              | 104.3±7.40 <sup>b</sup>               | p<0.01                       |
| T.Protein (g/dl)    | 7.02±0.11                           | 6.90±0.19                            | 6.93±0.13                            | 6.73±0.19                            | 6.99±0.19                            | 7.24±0.16                             | p>0.05                       |
| Albumin (g/dl)      | 1.37±0.05                           | 1.36±0.06                            | 1.36±0.06                            | 1.31±0.05                            | 1.33±0.05                            | 1.32±0.05                             | p>0.05                       |

a, b, c, d, e: Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05).

Ortalama AcAc düzeyleri arasındaki artış istatistiksel olarak önemsiz (Tablo 3) bulundu. Ancak ortalama BHB konsantrasyonlarında, 0. saat ile kıyaslandığında 12. saatte istatistiksel olarak önemsiz bir artış gösterirken, 0.-72., 0.-120., 12.-72., 12.-120, 24.-72., 24.-120. saatler arasındaki istatistiksel yönden anlamlı

bir azalma gözlemlendi (p<0.05, Tablo 3). Ortalama NEFA düzeyleri ise 0. saate göre 12, 24, 48, 72 ve 120. saatlerde, ayrıca phlorizin uygulamasını takiben 12.-48., 12.-72., 12.-120., 24.-48., 24.-72., 24.-120., 48.-120 ve 72.-120. saatler arasında istatistiksel açıdan önemli bir artış belirlendi (p<0.05, Tablo 3).

**Tablo 3.** Çalışmada kullanılan koyunların (n=10) ortalama BHB, NEFA ve AcAc seviyeleri

| Parametreler | 0.Saat<br>$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ | 12.Saat<br>$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ | 24.Saat<br>$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ | 48.Saat<br>$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ | 72.Saat<br>$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ | 120.Saat<br>$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ | İstatistik<br>Önem<br>Düzeyi |
|--------------|-------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|------------------------------|
| AcAc mg/dL   | 0.38±0.09                           | 0.39±0.08                            | 0.47±0.07                            | 0.53±0.03                            | 0.50±0.03                            | 0.50±0.03                             | p>0.05                       |
| BHB mg/dL    | 4.39±0.11 <sup>a</sup>              | 4.62±0.15 <sup>a</sup>               | 4.25±0.06 <sup>a</sup>               | 3.96±0.12 <sup>ac</sup>              | 3.89±0.08 <sup>bc</sup>              | 3.60±0.12 <sup>bc</sup>               | p<0.001                      |
| NEFA mg/dL   | 3.90±0.79 <sup>d</sup>              | 4.98±0.59 <sup>c</sup>               | 4.40±0.68 <sup>c</sup>               | 6.60±0.69 <sup>b</sup>               | 6.44±0.33 <sup>b</sup>               | 7.17±0.57 <sup>a</sup>                | p<0.001                      |

<sup>a,b,c</sup>: Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05).

Çalışmada koyunlara phlorizin uygulanması sonucunda elde edilen oksidatif stress parametrelerinden ortalama TAS düzeyleri arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemsiz olduğu tespit edilirken, ortalama TOS değerlerinde 0.-12., 0.-24., 0.-48., 0.-72., 0.-120., 24.-72., 24.-120. saatler arasında azalma (p<0.05) belirlendi (Tablo 5). Phlorizin uygulamasını takiben ortalama TOS değerlerinde

12. saate göre; 24. saatte artış (p<0.05), 48, 72 ve 120. saatlerde azalma belirlendi (p<0.05). Ortalama OSI değerlerinin phlorizin uygulanmadan önce ile kıyaslandığında phlorizin uygulaması sonrasındaki tüm saatlerde azaldığı belirlendi. OSI değeri için 12.-24. saatler hariç, diğer saatler arasındaki azalmanın önemli olduğu belirlendi (p<0.05, Tablo 4).

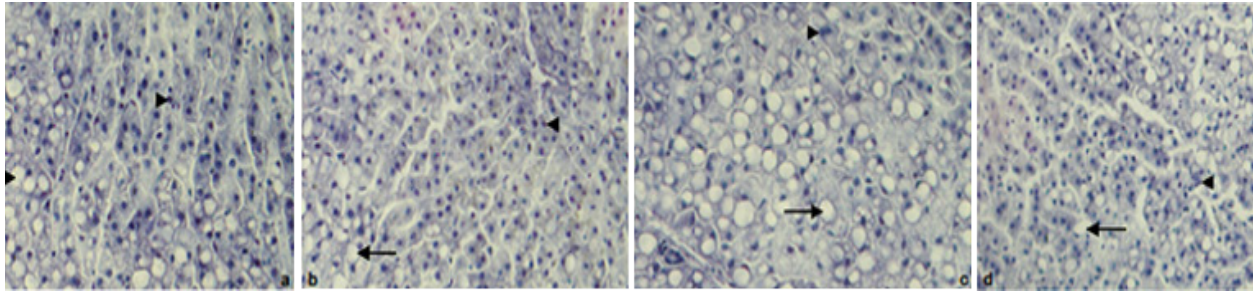
**Tablo 4.** Çalışmada kullanılan koyunların (n=10) ortalama oksidatif stres parametreleri

| Parametreler   | 0.Saat<br>$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ | 12.Saat<br>$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ | 24.Saat<br>$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ | 48.Saat<br>$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ | 72.Saat<br>$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ | 120.Saat<br>$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ | İstatistik<br>Önem<br>Düzeyi |
|--|-------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|------------------------------|
| TOS (µmol H <sub>2</sub> O <sub>2</sub><br>equivalent/L) | 4.38±0.31 <sup>a</sup>              | 2.81±0.38 <sup>c</sup>               | 3.45±0.26 <sup>b</sup>               | 2.79±0.25 <sup>c</sup>               | 2.33±0.20 <sup>d</sup>               | 2.37±0.23 <sup>d</sup>                | p<0.001                      |
| TAS (mmol Trolox<br>equivalent/L)                        | 0.27±0.03                           | 0.26±0.03                            | 0.33±0.03                            | 0.27±0.01                            | 0.25±0.02                            | 0.25±0.01                             | p>0.05                       |
| OSI (%)  | 17.46±1.96 <sup>a</sup>             | 11.26±1.60 <sup>b</sup>              | 11.11±0.91 <sup>b</sup>              | 10.56±0.88 <sup>c</sup>              | 9.89±0.99 <sup>d</sup>               | 9.72±0.99 <sup>e</sup>                | p<0.001                      |

<sup>a,b,c,d,e</sup>: Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05).

Koyunların 0. saat ortalama sırt yağı kalınlığında (0.52±0.12) phlorizin uygulaması sonrasındaki 120. saatte (0.44±0.09) istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görüldü (p=0.008). Çalışmada yapılan biyopsi sonrası histopatolojik inceleme sonucunda; iki hayvanda da phlorizin uygulama öncesinde karaciğer epitel hücrelerinin birçoğunun sitoplazmasında büyüklükleri farklı, elipsten yuvarlağa kadar değişen,

keskin kenarlı yağ vakuollerine rastlandı. Ayrıca Kupfer hücrelerinin sayıca fazla olması dikkat çekti (Şekil 1a,c). Phlorizin uygulandıktan sonra (144. saat) ise iki hayvanda da çok dikkat çekici şekilde olmasa da fokal alanlar tarzında hepatositlerin sitoplazmalarındaki yağ vakuollerinin sayısında azalma görüldü. Kupfer hücrelerinin görünümü çalışma öncesine benzer şekilde tespit edildi (Şekil 1b,d).



**Şekil-1 a.** Phlorizin uygulamasından önce 1 numaralı hayvanın karaciğerinin histopatolojik görünümü **b.** Phlorizin uygulamasından sonra (144. saat) 1 numaralı hayvanın karaciğerinin histopatolojik görünümü **c.** Phlorizin uygulamasından önce 2 numaralı hayvanın karaciğerinin histopatolojik görünümü **d.** Phlorizin uygulamasından sonra (144. saat) 2 numaralı hayvanın karaciğerinin histopatolojik görünümü (Hx E., x200). Yağ vakuelleri siyah oklar, Kupfer hücreleri ok başı ile gösterilmiştir.

## Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada, phlorizin uygulanması öncesine göre koyunların ortalama canlı ağırlıklarında, phlorizin uygulanması sonrasındaki 120. saatte istatistiksel olarak anlamlı bir azalma belirlendi ( $p<0.05$ ). Bu çalışmaya paralel olarak Cai ve ark. (8) farelerde, Najafian ve ark. (28) ve Lu ve ark. (23) ratlarda yaptıkları çalışmalarda phlorizin uygulamasından sonra vücut ağırlıklarında önemli derecede azalma tespit ettiklerini rapor etmişlerdir. Canlı ağırlık kaybı phlorizinin plazma glikoz seviyesini düşürmesine bağlı olarak şekillenen hipoinsülinemisi sonucunda adipoz dokudaki lipolizisin artmasına bağlanabilir. Çalışmada koyunlara phlorizin uygulanması ile hematolojik parametrelerin, referans değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı şekilde değişebileceği belirlendi. Bu parametreler göz önünde bulundurulduğunda Aslan ve ark. (1)'nin çalışmasındaki hematolojik parametre bulguları bu çalışma ile benzerlik göstermektedir. Çalışmada kullanılan koyunların idrarlarındaki ortalama protein miktarlarının phlorizin uygulanmasından önceki ile kıyaslandığında 12. ve 24. saatlerde arttığı, 48., 72., 96. ve 120. saatlerde azaldığı belirlendi ( $p<0.05$ ). Benzer şekilde Janssen ve ark. (19) obez ratlarda, Malatiali ve ark. (25) ve Osorio ve ark. (30) diabetik ratlarda yaptıkları deneysel çalışmalarda, phlorizin tedavisinin proteinüriye neden olduğunu belirtmişlerdir.

Bu çalışmada phlorizin uygulamasından sonraki bütün saatlerde glikozüri görülmüştür ( $p<0.05$ ). Çeşitli hayvan türlerinde yapılan çalışmalarda phlorizinin glikozüri oluşturduğu bildirilmiştir (4,6,21,25,41,42). Glikozürinin nedeni diğer çalışmalara paralel olarak phlorizinin sodyum bağımlı glikoz taşıyıcı 2 (SGLT2)'yi inhibe etmesi sonucunda (32) proksimal renal tubullerinden glikoz reabsorpsiyonunun engellenmesi olduğu düşünülmektedir.

Çalışmada phlorizin uygulanmasından sonraki 72., 96. ve 120. saatlerde az miktarda ketonüri görülmüştür ( $p>0.05$ ). Fakat Başoğlu ve ark. (4) tarafından koyunlarda yapılan bir çalışmada deney grubundaki bütün hayvanların idrarında keton cisimcikleri belirlendiği bildirilmiştir. Aynı çalışmada oluşturulan deney grubunun hepsinde ve phlorizin uygulamasını takiben bütün saatlerde ketonüri görülmesinin sebebi phlorizin uygulaması ile birlikte hayvanların aç bırakılması ve buna bağlı olarak şekillenen açlık ketozisi ile açıklanabilir. Çalışmada koyunlara phlorizin uygulanmasından sonraki bütün saatlerde ortalama serum glikoz düzeylerinde düşme gözlemlendi. Bu çalışmaya paralel olarak çeşitli hayvan türlerinde yapılan çalışmalarda, phlorizin uygulanması sonucu plazma glikoz seviyesinde hızlı bir düşüş görüldüğü rapor edilmiştir (4,8,19,23,28,29,31,42).

Bu çalışmada, serum insülin düzeylerinin phlorizin uygulanmasından sonra sürekli olarak azaldığı belirlendi. Bu çalışma sonuçlarına paralel olarak,

bazı araştırmacıların farklı hayvan türlerindeki çalışmaları, phlorizin uygulanmasından sonra serum insülin seviyelerinin önemli derecede düştüğü belirtilmiştir (2,15,17,24,28). Bazı araştırmacılar ise farklı hayvan türlerinde, phlorizin enjeksiyonunun plazma insülin konsantrasyonunda önemli bir değişikliğe sebep olmadığını bildirmişlerdir (6,29,31,42). Bu çalışmalarda insülin seviyesinin değişmemesi hayvanların beslenme şekillerinin bu çalışmadaki ile farklılığından ya da kan glikoz miktarlarının farklı olmasından kaynaklanabilir.

Koyunlara phlorizin uygulandıktan sonraki bütün saatlerde ortalama serum trigliserit düzeylerinde azalma belirlendi. Benzer şekilde farklı araştırmacılar farklı hayvan türlerinde yaptıkları çalışmalarda, phlorizin uygulamasından sonra serum TG seviyesinde önemli ölçüde azalma olduğunu bildirmişlerdir (8,23,28,29). Bunun nedeni olarak TG'lerin hidrolize olarak serbest yağ asitlerine dönüşmesi gösterilebilir.

Phlorizin uygulamasından sonra çalışmada kullanılan koyunların ortalama serum AST değerlerine bakıldığında 12. ve 72. saatlerde hafif derecede artma ve diğer saatlerde aynı şekilde azalma görüldü. ALT değerleri ise 12., 24. ve 72. saatlerde artış, 48. ve 120. saatlerde azalma göstermiştir. Deng ve ark. (10) tarafından karbon tetraklorür ile oluşturulmuş hepatik fibrosisli ratlarda, phlorizinin serum AST ve ALT seviyelerini önemli ölçüde düşürdüğü bildirilmiştir. Phlorizin enjeksiyonundan sonraki ortalama BHB değerlerinin 48. saate kadar değişmediği ancak 72. ve 120. saatlerde azaldığı belirlendi. Bu çalışmanın aksine bazı araştırmacılar tarafından koyunlarda (15,17,31) ve boğalarda (27) yapılan çalışmalarda phlorizinin tekrarlayan deri altı enjeksiyonları sonucu ortalama BHB değerlerinin önemli ölçüde arttığını bildirmişlerdir. Ortalama BHB konsantrasyonunun diğer çalışmalardan (15,17,27,31) farklı olarak fazla etkilenmemesinin nedeni, phlorizinin deri altı ve tek doz uygulanması olabilir.

Bu çalışmada koyunlarda phlorizin enjeksiyonundan sonra ortalama NEFA seviyelerinin bütün ölçümlerde arttığı belirlendi. Yapılan bazı çalışmalarda da, phlorizinin plazma NEFA konsantrasyonunda artışa yol açtığı belirtilmiştir (4,6,15,17,21,31). Çalışmada NEFA konsantrasyonundaki artışın nedeni, phlorizin uygulanan hayvanlarda glikozüri nedeniyle total kan şekeri düzeyinin düşmesine bağlı olarak şekillenen hipoinsülemi sonucunda adipoz dokudaki lipolizise bağlanabilir (17,24,31). Çalışmada koyunlara phlorizin uygulanması sonucunda elde edilen oksidatif stres parametreleri değerlendirildiğinde; phlorizin enjeksiyonundan sonra ortalama TOS seviyelerinin bütün saatlerde azaldığı tespit edilmiştir. TAS değerlerindeki değişimlerin ise istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlendi. Koyunlarda belirlenen ortalama OSI değerlerinin 0. saate göre bütün saatlerde

daha düşük olduğu tespit edildi. Osorio ve ark. (30) diabetik ratlara 4 hafta phlorizin uygulanmasının hiperglisemi ve böbreklerdeki oksidatif stresi engellediğini belirtmişlerdir. Baldisserotto ve ark. (3) phlorizinin antioksidan aktiviteye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Bazı araştırmacılar da phlorizinin oksidatif stresi azalttığını belirtmişlerdir (35,36).

Çalışmada koyunların sırt bölgesindeki yağ kalınlığında 0. saate göre 120. saatte azalma belirlendi. Bu çalışmaya paralel olarak Zhao ve ark. (42)'nin farelerde yaptıkları çalışmada, phlorizin tedavisinin yağ kitlesinde azalmaya sebebiyet verirken, yağsız vücut kitlesinde değişikliğe neden olmadığı bildirilmiştir. Phlorizin uygulamasından sonra ki 120. saatte karaciğerlerinin histopatolojik muayenesinde; fokal alanlar tarzında hepatositlerin sitoplazmalarındaki yağ vakuollerinin sayısında azalma görüldü. Bradford ve ark. (6) sığırlarda yaptıkları çalışmada, phlorizinin lipolizisi stimüle ettiğini bildirmişlerdir. Herdt ve ark. (15) açlığın karaciğer yağlanmasını indüklediğini belirtmişlerdir. Bu çalışmalarda phlorizinin yoğun şekilde uzun süre kullanımı ve hayvanların aç bırakılmasına bağlı olarak, hepatositler ve yağ metabolizması üzerindeki olumsuz etkiler göz önünde bulundurulmalıdır.

Sonuç olarak, çalışmada kullanılan koyunlara deri altı phlorizin enjeksiyonundan sonra, oksidatif stres indikatörlerinden TOS ve OSI değerlerinde görülen azalma phlorizinin oksidatif stresi azalttığı görüşünü destekledi. Bu çalışmada phlorizinin serum NEFA ve HDL konsantrasyonunu yükselttiği, trigliserit miktarını azalttığı, kan glikoz konsantrasyonu ve insülin seviyesini düşürdüğü ve karaciğer enzimlerinin aktivasyonunda kısmi azalmaya sebep olduğu gözlemlendi. Bu sonuçlar phlorizinin karaciğer fonksiyonlarını olumsuz etkilemediğini göstermektedir. Ayrıca ultrasonografik muayenede ortalama vücut sırt yağı kalınlığının azalması ve karaciğerden alınan biyopsi örneklerinin histopatolojik incelemesinde hepatositlerdeki yağ vakuolü miktarının düşme eğiliminde olması, phlorizinin uygun doz ve uygulama şekli ile yağ metabolizması bozukluklarından kaynaklanan hastalıkların tedavisinde olumlu etkiler yapabileceğini gösterdi.

#### Teşekkür

Çalışmamızda biyopsi örneklerinin alınması ve histopatolojik yönden incelenmesinde emeği geçen Cerrahi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Gültekin ATALAN ve Patoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ayhan ATASEVER'e teşekkür ederiz.

#### Kaynaklar

1. Aslan V, Aştı RN, Nizamlioğlu M, Tekeli T, Başoğlu A, Demirci Ü. Postpartum dönem hastalıklarının yağlı karaciğer sendromu ile ilgisi. Selçuk Ü Vet Fak Derg 1989; 4(1): 43-51.

2. Aslan V, Aştı RN, Tiftik AM, Eksen M. Effect of niacin on blood metabolites, rumen protozoa, insulin levels and fatty liver in experimentally induced ketosis in ewes. Selçuk Ü Vet Fak Derg 1988; 4(1): 109-21.
3. Baldisserotto A, Malisardi G, Scalambra E, Andreotti E, Romagnoli C, Vicentini CB, Manfredini S, Vertuani S. Synthesis, antioxidant and antimicrobial activity of a new phloridzin derivative for dermo-cosmetic applications. Molecules 2012; 17(11): 13275-89.
4. Başoğlu A, Turgut K, Eksen M, Traş B, Maden M, Ok M, Baş L, Keskin E. Effect of phlorizin - induced ketosis on riboflavin and niacin levels in sheep. Selçuk Üniversitesi Vet Fak Derg 1993; 9(1): 58-63.
5. Boccia MM, Kopf SR, Baratti CM. Phlorizin, a competitive inhibitor of glucose transport, facilitates memory storage in mice. Neurobiol Learn Mem 1999; 71: 104-12.
6. Bradford BJ, Allen MS. Phlorizin induces lipolysis and alters meal patterns in both early and late lactation dairy cows. J Dairy Sci 2007; 90: 1810-5.
7. Burtis CA, Jackson HD, Packett LV, Goetsch GD. Effects of glucagon, glycerol, and insulin on phlorizin induced ketosis in fasted, nonpregnant ewes. Am J Vet Res 1968; 29: 647.
8. Cai O, Li B, Yu F, Lu W, Zhang Z, Yin M, Gao H. Investigation of the protective effects of phlorizin on diabetic cardiomyopathy in db/db mice by quantitative proteomics. J Diabetes Res 2013; 1-9.
9. Cox SD, Jayasinghe KC, Markham JL. Antioxidant activity in Australian native sarsaparilla (*Smilax glycyphylla*). J Ethnopharmacol 2005; 101(1-3): 162-8.
10. Deng G, Wang J, Zhang Q, He H, Wu F, Feng T, Zhou J, Zou K, Hattori M. Hepatoprotective effects of phloridzin on hepatic fibrosis induced by carbon tetrachloride against oxidative stress-triggered damage and fibrosis in rats. Biol Pharm Bull 2012; 35(7): 1118-25.
11. Dong H, Ning Z, Yu L, Li L, Lin L, Huang J. Preparative separation and identification of the flavonoid phlorizin from the crude extract of *Lithocarpus Polystachyus* Rehd. Molecules 2007; 12(3): 552-62.
12. Ehrenkranz JRL, Lewis NG, Kahn CR, Roth J. Phlorizin: a review. Diabetes/ Metab Res Rev 2005; 21: 31-8.



13. Ghanem E, Robaye B, Leal T, Leipziger J, Van Driessche W, Beauwens R, Boeynaems JM. The role of epithelial P2Y(2) and P2Y(4) receptors in the regulation of intestinal chloride secretion. *Brit J Pharm* 2005; 146: 364-9.
14. Hall JL, Reilly RT, Cottrill KL, Stone WS, Gold PE. Phlorizin enhancement of memory in rats and mice. *Pharmacol Biochem Behav* 1992; 41(2): 295-9.
15. Herdt TH, Gerloff BJ. Hepatik lipidosis and liver function in 49 cows with displaced abomasum Twelfth World Congress on Diseases of Cattle. September, 7-10, 1984; Amsterdam-Hollanda.
16. Hilt P, Schieber A, Yildirim C, Arnold G, Klaiber I, Conrad JR, Beifuss U, Carle R. Detection of phloridzin in strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.) by HPLC-PDA-MS/MS and NMR spectroscopy. *J Agric Food Chem* 2003; 51: 2896-9.
17. Holtenius BK, Holtenius P. Effects of peroral alanine administration in lactating ewes with decreased availability of glucose. *Br J Nut* 1997; 78: 805-13.
18. Hutchinson A, Taper C, Towers G. Studies of phloridzin in malus. *Can J Med Sci* 1959; 37(7): 901-10.
19. Janssen SW, Martens GL, Sweep PN, Span PN, Verhofstad AAJ, Hermus ARMM. Phlorizin treatment prevents the decrease in plasma insulin levels but not the progressive histopathological changes in the pancreatic islets during aging of Zucker diabetic fatty rats. *J Endocrinol Invest* 2003; 26(6): 508-15.
20. Jervis EL, Johnson FR, Sheff MF, Smyth DH. The effect of phlorizin on intestinal absorption and intestinal phosphatase. *J Physiol* 1956; 134: 675.
21. Kıyıcı Şıklaroğlu R. Deneysel Ketozis Oluşturulan Koyunlarda Parenteral Lipid Emilasyonlarının Tedavi Edici Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi. Erciyes Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner İç Hastalıkları Programı. Kayseri-Türkiye, 2012.
22. Largis EE, Jacobs FA. Effects of phlorizin on glucose transport into blood and lymph. *Biochim Biophys Acta* 1971; 255: 301.
23. Lu WD, Li BY, Yu F, Cai Q, Zhang Z, Yin M, Gao HQ. Quantitative proteomics study on the protective mechanism of phlorizin on hepatic damage in diabetic db/db mice. *Med Report* 2012; 5(5): 1285-94.
24. Lyle RR, de Boer G, Mills SE, Russell RW, Beitz DC, Young JW. Glucose kinetics, plasma metabolites, and endocrine responses during Experimental ketoin in steers, *J Dairy Sci* 1984; 67(10): 2255-64.
25. Malatiali S, Francis I, Barac NM. Phlorizin prevents glomerular hyperfiltration but not hypertrophy in diabetic rats. *Exp Diabetes Res* 2008; 2008: 1-7.
26. McCrimmon R, Evans M, Jacob R, Fan X, Zhu Y, Shulman GI, Sherwin RS. AICAR and phlorizin reverse the hypoglycemia-specific defect in glucagon secretion in the diabetic BB rat. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; 283(5): 1076-83.
27. Mills SE, Lyle RR, Beitz DC, Young JW. In vitro hepatic gluconeogenesis during experimental ketosis produced in steers by 1,3-butanediol and phlorizin. *J Dairy Sci* 1984; 67: 2265-73.
28. Najafian M, Jahromi MZ, Nowroznjehad MJ, Khajeaian P, Kargar MM, Sadeghi M, Arasteh A. Phloridzin reduced blood glucose levels and improves lipids metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Mol Biol Rep* 2012; 39: 5299-306.
29. Ohta T, Morinaga H, Yamamoto T, Yamada T. Effect of phlorizin on metabolic abnormalities in spontaneously diabetic torii (STD) rats. *J Anim Sci* 2012; 2(2): 113-8.
30. Osorio H, Bautista R, Rios A, Franco M, Arellano A, Vargas-Robles H, Romo E, Escalante B. Effect of phlorizin on SGLT2 expression in the kidney of diabetic rats. *J Nephrol* 2010; 23(5): 541-6.
31. Overton TR, Drackley JK, Otteman-Abbamonte CJ, Beaulieu AD, Clark JH. Metabolic adaptation to experimentally increased glucose demand in ruminants. *J Anim Sci* 1998; 76: 2938-46.
32. Panayotova-Heiermann M, Loo DDR, Wright EM. Kinetics of steady-state currents and charge movements associated with the rat Na<sup>+</sup>/glucose cotransporter. *J Biol Chem* 1995; 270: 27099-105.
33. Petersen C. Analyse des phloridzins. *Ann Acad Sci France* 1835; 15: 178. 'Ehrenkranz JRL, Lewis NG, Kahn CR, Roth J. Phlorizin: a review. *Diabetes/ Metab Res Rev* 2005; 21: 31-8.'
34. Puel C, Quintin A, Mathey J, Obled C, Davicco MJ, Lebecque P, Kati-Coulibaly S, Horcajada MN, Coxam V. Prevention of bone loss by phloridzin, an apple polyphenol, in ovariectomized rats under inflammation conditions. *Calcif Tissue Int* 2005; 77: 311-8.
35. Ridgway T, O'Reilly J, West G, Tucker G, Wiseman H. Antioxidant action of novel derivatives of the apple-derived flavonoid phloridzin compared to oestrogen; relevance to potential cardioprotective action. *Biochem Soc Trans* 1997; 106: 125.
36. Shen L, You BA, Gao HQ, Li BY, Yu F, Pei F. Effects of phlorizin on vascular complications in diabetes db/db mice. *Chin Med J (Engl)* 2012; 125(20): 3692-6.

37. Ugocsai K, Varga A, Molnar P, Antus S, Molnar J. Effects of selected flavonoids and carotenoids on drug accumulation and apoptosis induction in multidrug-resistant colon cancer cells expressing MDR1/LRP. *In Vivo* 2005; 19: 433-8.
38. Walle T, Walle UK. The beta-D-glucoside and sodium-dependent glucose transporter 1 (SGLT1)-inhibitor phloridzin is transported by both SGLT1 and multidrug resistance-associated proteins 1/2. *Drug Metab Dispos* 2003; 31: 1288-91.
39. Van den Berghe G, Wouters P, Weekers F. Intensive insulin therapy in critically ill patients. *N Engl J Med* 2001; 345: 1359-67.
40. Veeriah S, Kautenburger T, Habermann N, Sauer J, Dietrich H, Will F, Pool-Zobel BL. Apple flavonoids inhibit growth of HT29 human colon cancer cells and modulate expression of genes involved in the biotransformation of xenobiotics. *Mol Carcinogen* 2006; 45: 164-74.
41. Young JW, Schmidt SP, Akawuah ES, Hess GS, McGilliard AD. Effects of phlorizin on glucose kinetics in the bovine. *J Dairy Sci* 1974; 57: 689.
42. Zhao H, Yakar S, Gavrilova O, Sun H, Zhang Y, Kim H, Setser J, Jou W, LeRoith D. Phloridzin improves hyperglycemia but not hepatic insulin resistance in a transgenic mouse model of type 2 diabetes. *Diabetes* 2004; 53: 2901-9.

**Yazışma Adresi:**

Dr. İlnur KARACA BEKDİK  
Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi,  
İç Hastalıkları Anabilim Dalı,  
Kayseri / TÜRKİYE  
e-mail: [ikaraca\\_38@hotmail.com](mailto:ikaraca_38@hotmail.com)



## Sezon İçi ve Sezon Dışında Koç Spermasının Dondurulmasında Antioksidanların Etkisi\*

Ali Doğan Ömür<sup>1</sup>, Kenan Çoyan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Erzurum-TÜRKİYE

<sup>2</sup>Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Denizli-TÜRKİYE

**Özet:** Merinos koçlardan suni vajen yardımıyla alınan ejakülatlar birleştirilerek 10 eşit hacme bölündü ve curcumin (C), ellagik asit (E) ve metiyoninin (M) 1, 2 ve 4 mM dozlarını içeren ve içermeyen (kontrol) Tris temelli sulandırıcısıyla 32°C'ta sulandırılarak 5°C'ta 3 saat ekilibrasyona bırakıldı. Ekilibrasyon sonrası sıvı azot buharında dondurulan sperma numuneleri sıvı azotta (-196°C) saklandı. Sezon içi dönemde dondurma-çözdürme sonrasında motilite oranlarına bakıldığında kontrol (%45.0 ± 5.9) grubu, antioksidan gruplarına göre daha düşük spermatozoa motilitesi oranı verdi (P<0,05). Anormal spermatozoa baş oranı açısından E 1 (%2.3 ± 0.9) en düşük değeri gösterdi. Ayrıca baş ve akrozom dışındaki diğer bölgelerde gözlenen anormal spermatozoa oranları açısından kontrol (%13.7 ± 1.0) ve M 1 (%13.8 ± 0.8) gruplarında, C 4 (%12.2 ± 0.4) ve E 4 (%12.2 ± 0.7) gruplarına nazaran önemli bir artış belirlendi (P<0,05). Sezon dışı dönemde dondurulmuş-çözdürülmüş spermanın motilite oranları açısından, M 4 (%43.1 ± 3.7), M 2 (%45.6 ± 5.6), M 1 (%44.3 ± 8.2), C 4 (%43.1 ± 4.5) ve C 1 (%40.0 ± 7.5) grupları kontrol grubuna (%29.3 ± 4.9) göre daha yüksek spermatozoa motilitesi oranı verdi (P<0,05). Membran bütünlüğü (HOST) değerleri incelendiğinde C 4 (%48.1 ± 2.5) grubu, E 4 (%40.6 ± 4.1) ve kontrol (%41.2 ± 3.5) gruplarına göre yüksek sonuç verdi (P<0,05). Anormal spermatozoa baş oranları açısından M 2 (%3.0 ± 0.0) grubu en düşük oran verdi. Baş ve akrozom dışındaki diğer bölgelerdeki anormal spermatozoa oranlarına bakıldığında, kontrol (%20.0 ± 1.3) grubu, M 1 (%17.8 ± 1.1), M 2 (%17.6 ± 0.7) ve C 4 (%18.3 ± 1.1) gruplarına göre yüksek düzeyde farklı bulundu (P<0,05). Sonuç olarak, sezon içi ve dışında alınmış koç spermalarına katılan farklı antioksidanların farklı dozlarının dondurulmuş-çözdürülmüş spermanın bazı spermatozojik parametreleri üzerinde olumlu etkilere sahip oldukları kanaatine varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Antioksidan, koç sperması, spermanın dondurulması, spermatozojik parametreler

### Effect of Antioxidants on Cryopreservation of Ram Semen in and out of Breeding Season

**Summary:** Ejaculates collected using an artificial vagina from Merino rams were pooled, then splitting into 10 equal aliquots. The aliquots were diluted in a Tris-based extender containing curcumin (C), ellagic acid (E) and methionine (M) at doses of 1, 2 and 4 mM, and no additive (control) at 32°C. Diluted samples were equilibrated at 5°C for 3h. After equilibration, the samples frozen in liquid nitrogen vapour were plunged into liquid nitrogen (-196°C) for storage. When motility rates of frozen-thawed semen collected in breeding season were considered, control group (%45.0 ± 5.9) exhibited lower motility rate than the antioxidant groups (P<0.05). Ellagic acid - E1 mM (%2.3 ± 0.9) had the lowest abnormal head structure rate (P<0.05). Furthermore, in terms of abnormal spermatozoa rates observed in other pieces of spermatozoa except for head and acrosome a significant (P <0.05) increase was determined in control (%13.7 ± 1.0) and M 1 (%13.8 ± 0.8) groups compared to those in the C 4 (%12.2 ± 0.4) and E 4 (%12.2 ± 0.7) groups. With respect to motility rates of frozen-thawed semen collected in non-breeding season, M 4 (%43.1 ± 3.7), M 2 (%45.6 ± 5.6), M 1 (%44.3 ± 8.2), C 4 (%43.1 ± 4.5) and C 1 (%40.0 ± 7.5) gave higher motility rates compared to the control group (%29.3 ± 4.9) (P<0.05). The C 4 (%48.1 ± 2.5) gave higher percentage compared to E 4 (%40.6 ± 4.1) and control (%41.2 ± 3.5) in terms of membrane integrity (HOST) values. The M 2 (%3.0 ± 0.0) had the lowest abnormal head structure rate compared to other groups (P<0.05). In terms of abnormal spermatozoa rates observed in other pieces of spermatozoa except for head and acrosome. Control group (%20.0 ± 1.3) had higher rate compared to M 1 (%17.8 ± 1.1), M 2 (%17.6 ± 0.7) and C 4 (%18.3 ± 1.1). In conclusion, it was suggested that different doses of different antioxidants added to ram semen collected in breeding and non-breeding season had positive effects on some spermatologic parameters of frozen-thawed semen.

**Key Words:** Antioxidant, ram semen, semen cryopreservation, spermatologic parameters

### Giriş

Koç sperması dondurmaya karşı oldukça hassastır. Bu durumun temel nedeni spermatozoa membranının önemli bir kısmını doymamış yağ asitlerinin (fosfolipitler) oluşturmasıdır. Buna bağlı olarak spermatozoanın dondurulması sırasında yapılan soğutma işlemleri spermatozoa membranının geriye dönüşümü olmayan sıvı fazdan jel fazına geçmesine neden olmakta ve membran içi enzimlerin kinetiğinde

değişimlere yol açarak çözümünü canlılığın azalmasına sebebiyet verdiği öne sürülmektedir (23). Diğer taraftan koç spermasının dondurulma başarısı üzerine aşım mevsiminin geçiş döneminin ve aşım mevsiminin önemli etkisinin olduğu da bildirilmiştir. Koçlarda mevsimsel değişikliklerin sperma parametreleri üzerine etkili olduğu ve dolayısıyla seminal plazmadaki spesifik proteinlerin yokluğunun ve toplam protein konsantrasyonlarındaki azalmanın donmuş spermadaki düşük motilite ile bağlantılı olabileceği (18) ayrıca sezon dışında, sezon içine göre spermatozojik parametrelerin doğal olarak optimum değerlerden sapa gösterdiği bildirilmiştir (6). Buna ek olarak yapılan çalışmalarda sezon içinde alınan koç spermasının dondurulabilme başarısının daha

Geliş Tarihi / Submission Date : 17.01.2014

Kabul Tarihi / Accepted Date : 16.04.2014

\*Bu çalışmanın özeti VII. Ulusal Reprodüksiyon ve Suni Tohumlama Bilim Kongresi'nde sözlü bildiri olarak sunulmuş ve Selçuk Üniversitesi BAP Koordinatörlüğü (Proje no: 09102041) tarafından desteklenmiştir.

yüksek olduğu bildirilmiştir (16). Oksidatif stresin normal spermatozoon fonksiyonlarını bozabileceği, spermanın yüksek oksijen basıncı altında inkubasyonu ile spermatozoon motilitesinin hızlı bir şekilde azaldığının görülmesiyle ortaya konulmuştur (14). Antioksidanlar ise genel anlamda serbest radikallerin şekillenmesini inhibe ederek organizmayı zararlı etkilerinden korumakta ve bu sayede hücreler oksidatif hasara karşı vital fonksiyonlarını sürdürmektedirler (15). Koç spermasının dondurulması ve dondurulmuş spermalarla ilk suni tohumlama uygulamaları Sovyetler Birliği'nde başlamış, daha sonra Avrupa ülkelerine geçmiştir. Türkiye'de ise Cumhuriyet'in ilk yıllarında başlatılan koyun ıslahı çalışmaları günümüzde henüz istenen başarıya ulaşamamıştır (20). Bunun çeşitli nedenleri olmakla birlikte, koç spermasının dondurulmasının zorluğu ve koyunlarda suni tohumlamanın etkin yapılamaması sayılabilir. Bu nedenle araştırmacılar koç spermasının dondurma teknik ve yöntemleri üzerinde yoğunlaşmışlardır (24). Birçok araştırmacı çeşitli antioksidanları kullanarak farklı yöntemlerle koç spermasını kısa süreli saklamışlar ve dondurmuşlardır. Dondurulmuş koç spermasından döl verimini artırmak amacıyla özellikle dondurma aşamasında spermaya antioksidanlar, vitaminler ve hormonlar katılmaktadır (9). Bu çalışma dondurma-çözdürme sonrası sperm parametreleri üzerine çeşitli antioksidanların etkinliğini belirlemek amacıyla yapıldı.

### Gereç ve Yöntem

2008/051 karar sayılı ve 26/06/2008 tarihli Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurul kararı ile çalışmanın izni alınmıştır.

Çalışmada 2-5 yaşlı 4 baş ergin Merinos koçtan alınan ejakülatlar kullanıldı. Koçların bakım ve beslemesi Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Araştırma ve Uygulama Çiftliğinde standart yetiştirme koşullarında yapıldı.

Ejakülatlar, aşım sezonunda (sonbahar) ve aşım sezon dışında (ilkbahar) suni vajen yardımıyla haftada iki kez, 4 hafta süresince alındı. Alınan ejakülatlardan uygun özellik (sperma yoğunluğu  $\geq 3 \times 10^9$  spermatozoa/ml; motilite  $\geq 80$ ) gösterenler birleştirildi. Birleştirilen ejakülatın sulandırılmasında temel Tris sulandırıcısına (297.58mM tris, 96.32 mM sitrik asit, 82.66 mM fruktoz) %15 yumurta sarısı, gliserol %5, penisilin 500 IU/ml, streptomisin 500 IU/ml ilave edildi. Sulandırma işleminden önce curcumin ve metiyonin pH değeri 8-8.5 olan NaOH içerisinde, ellagik asit ise pH değeri 8-8.5 olan KOH içerisinde çözdürüldü. Hazırlanan sulandırıcının pH'sı 6.8-7.0 olarak ayarlandı. Birleştirilen ejakülatlar 32°C'ta 10 eşit hacme bölünerek curcumin (1 miliMolar, 2 miliMolar, 4 miliMolar), ellagik asit (1 miliMolar, 2 miliMolar, 4 miliMolar), metiyonin (1 miliMolar, 2 miliMolar, 4 miliMolar) içeren ve antioksidan içermeyen (kontrol) Tris sulandırıcısıyla yaklaşık  $4 \times 10^8$  spermatozoa/

ml olacak şekilde sulandırıldı. Sulandırma işlemini takiben sperma numuneleri 10 dakika oda ısısında tutuldu. Ardından 0.25 ml'lik payetlere çekilerek yaklaşık 120-150 dakika +5°C'ta ekilibrasyona bırakıldı ve ekilibrasyonu izleyen süreçte sıvı azot buharında (~-120°C) 10 dakika dondurularak -196°C'taki sıvı azotta saklandı. Çalışma aşım sezonunda 8, aşım sezonu dışında 8, toplamda 16 replikasyondan oluştu. Çalışmada antioksidan içeren ve içermeyen sperma numuneleri dondurma/çözdürme sonrası spermatolojik muayenelerden spermatozoa motilitesi, anormal spermatozoa oranı ve plazma membran bütünlüğü (HOST) yönüyle değerlendirildi. Dondurulmuş payetler en az 48 saat sıvı azotta bekletildi. Payetler 37°C'lık su banyosunda 30 saniye bekletilerek çözdürüldü. Spermatozoa motilite analizi için; 37°C'ta ısıtma tablalı faz kontrast mikroskopun 400x büyütmesinde lam-lamel arasına alınan bir damla sperma numunesinde en az 3 değişik mikroskop sahasına bakıldı. Sahalardaki motilite oranları ortalaması alınarak % motilite oranı olarak kaydedildi. Anormal spermatozoa oranı için; Hancock sıvısına alınan sperma numunesi, faz kontrast mikroskopun immersiyon objektifinde bakılarak spermatozoa anomalileri % olarak kaydedildi. Plazma membranının fonksiyonel bütünlüğünün belirlenmesi için HOS-test uygulandı. HOS-test, 300  $\mu$ l 100 mOsm hipoozmotik sıvıya 30  $\mu$ l sperma numunesiyle karıştırılarak 37°C'ta bir saat bekletilmesiyle yapıldı. Bu karışımdan yapılan frotide faz kontrast mikroskopun 400x büyütmesinde toplam 400 spermatozoa sayıldı, bunlardan kıvrık ve şişmiş kuyruğa sahip olanlar % olarak ifade edildi.

### İstatistiki Hesaplamalar

İstatistik analizlerde farklı grupların karşılaştırılması tek yönlü varyans analizi ile, aralarında önemli farklılık bulunan grupların ikili karşılaştırılması Tukey HSD ile yapıldı. İstatistik analizlerde SPSS 15.0 paket programı kullanıldı.

### Bulgular

#### Sperma Numunelerinde Sezon İçi Dondurma-Çözdürme Sonu Bulgular

Elde edilen bulgular Tablo 1'de verildi. Plazma membran bütünlüğü ve akrozom anomalisi değerleri açısından gruplar arasında önemli bir fark gözlenmedi ( $P > 0.05$ ). Kontrol grubu ( $45.0 \pm 5.9$ ) antioksidan gruplarına göre daha düşük motilite oranı gösterdi ( $P < 0.05$ ). Anormal spermatozoa başı oranı açısından E 1 ( $2.3 \pm 0.9$ ), kontrol ( $3.6 \pm 0.9$ )'e göre daha düşük değer gösterdi ( $P < 0.05$ ).

Ayrıca baş ve akrozom dışındaki diğer bölgelerdeki anormal spermatozoa değerleri için C 4 ( $12.2 \pm 0.4$ ) ve E 4 ( $12.2 \pm 0.7$ ) gruplarının kontrol grubuna ( $13.7 \pm 1.0$ ) ve M 1 ( $13.8 \pm 0.8$ )'e göre önemli ölçüde koruma sağladığı belirlendi ( $P < 0.05$ ).

**Tablo 1.** Sezon içi dondurma-çözdürme sonrasında ait spermatolojik parametreler (x±SEM)

| Gruplar                  | N | Motilite %               | Host %     | Anormal Spermatozoa Oranı % |           |                          |
|--------------------------|---|--------------------------|------------|-----------------------------|-----------|--------------------------|
|                          |   |                          |            | Baş                         | Akrozom   | Diğer                    |
| 1 Kontrol                | 8 | 45.0 ± 5.9 <sup>b</sup>  | 52.5 ± 2.6 | 3.6 ± 0.9 <sup>a</sup>      | 2.5 ± 0.5 | 13.7 ± 1.0 <sup>a</sup>  |
| 2 M 1 mM                 | 8 | 58.7 ± 8.7 <sup>a</sup>  | 54.3 ± 3.2 | 3.1 ± 0.3 <sup>ab</sup>     | 2.7 ± 0.4 | 13.8 ± 0.8 <sup>a</sup>  |
| 3 M 2 mM                 | 8 | 51.2 ± 9.1 <sup>a</sup>  | 51.8 ± 2.5 | 3.3 ± 0.5 <sup>ab</sup>     | 3.0 ± 0.7 | 13.6 ± 1.1 <sup>ab</sup> |
| 4 M 4 mM                 | 8 | 53.1 ± 12.2 <sup>a</sup> | 51.8 ± 3.7 | 3.2 ± 0.7 <sup>ab</sup>     | 3.1 ± 0.6 | 13.5 ± 0.7 <sup>ab</sup> |
| 5 C 1 mM                 | 8 | 53.7 ± 7.4 <sup>a</sup>  | 51.8 ± 4.5 | 2.8 ± 0.6 <sup>ab</sup>     | 3.0 ± 0.5 | 13.0 ± 1.0 <sup>ab</sup> |
| 6 C 2 mM                 | 8 | 55.0 ± 3.7 <sup>a</sup>  | 51.8 ± 2.5 | 2.6 ± 0.7 <sup>ab</sup>     | 3.3 ± 0.5 | 13.5 ± 0.9 <sup>ab</sup> |
| 7 C 4 mM                 | 8 | 50.6 ± 4.9 <sup>a</sup>  | 52.5 ± 2.6 | 2.8 ± 0.6 <sup>ab</sup>     | 3.1 ± 0.6 | 12.2 ± 0.4 <sup>b</sup>  |
| 8 E 1 mM                 | 8 | 54.3 ± 5.6 <sup>a</sup>  | 52.5 ± 2.6 | 2.3 ± 0.9 <sup>b</sup>      | 3.2 ± 0.7 | 13.6 ± 0.9 <sup>ab</sup> |
| 9 E 2 mM                 | 8 | 56.2 ± 8.3 <sup>a</sup>  | 53.7 ± 3.5 | 3.0 ± 0.7 <sup>ab</sup>     | 2.7 ± 1.1 | 13.3 ± 0.7 <sup>ab</sup> |
| 10 E 4 mM                | 8 | 54.3 ± 8.2 <sup>a</sup>  | 52.5 ± 2.6 | 2.8 ± 0.8 <sup>ab</sup>     | 3.2 ± 0.4 | 12.2 ± 0.7 <sup>b</sup>  |
| İstatistik önem kontrolü |   | P<0.05                   | P>0.05     | P<0.05                      | P>0.05    | P<0.05                   |

<sup>a,b</sup> Aynı sütundaki farklı harfler taşıyan ortalamalar arası farklılıklar önemlidir.

### Sperma Numunelerinde Sezon Dışı Dondurma-Çözdürme Sonu Bulgular

Elde edilen bulgular Tablo 2'de verildi. Motilite bulgularında M 4 (%43.1 ± 3.7), M 2 (%45.6 ± 5.6), M 1 (%44.3 ± 8.2), C 4 (%43.1 ± 4.5), C 1 (%40.0 ± 7.5) grupları kontrol grubuna (%29.3 ± 4.9) göre daha yüksek motilite oranı verdi. (P<0.05). HOST değerleri incelendiğinde C 4 (%48.1 ± 2.5), kontrol (%41.2 ± 3.5) ve E 4 (%40.6 ± 4.1) gruplarına göre daha iyi membran koruyucu etkinlik gösterdi (P<0.05). Diğer

gruplar arasında HOST değerleri yönüyle anlamlı bir fark görülmedi (P>0.05). Anormal spermatozoa baş oranlarında M 2 (%3.0 ± 0.0) grubu, kontrol (%4.3 ± 0.5), C 2 (%4.0 ± 0.5), E 1 (%4.3 ± 0.5), E 2 (%4.2 ± 0.4) ve E 4 (%4.1 ± 0.8) gruplarına göre daha iyi koruma sağladı. Baş ve akrozom dışında kalan bölgelerdeki anormal spermatozoa oranlarına bakıldığında, kontrol (%20.0 ± 1.3) grubu, M 1 (%17.8 ± 1.1), M 2 (%17.6 ± 0.7) ve C 4 (%18.3 ± 1.1) gruplarına göre daha yüksek oran verdi (P<0.05).

**Tablo 2.** Sezon dışı dondurma-çözdürme sonrasında ait spermatolojik parametreler (x±SEM)

| Gruplar                  | N | Motilite %                | Host %                    | Anormal Spermatozoa Oranı % |           |                           |
|--------------------------|---|---------------------------|---------------------------|-----------------------------|-----------|---------------------------|
|                          |   |                           |                           | Baş                         | Akrozom   | Diğer                     |
| 1 Kontrol                | 8 | 29.3 ± 4.9 <sup>c</sup>   | 41.2 ± 3.5 <sup>bc</sup>  | 4.3 ± 0.5 <sup>a</sup>      | 3.7 ± 0.4 | 20.0 ± 1.3 <sup>a</sup>   |
| 2 M 1 mM                 | 8 | 44.3 ± 8.2 <sup>a</sup>   | 47.5 ± 5.3 <sup>ab</sup>  | 3.6 ± 0.5 <sup>ab</sup>     | 3.6 ± 0.5 | 17.8 ± 1.1 <sup>bc</sup>  |
| 3 M 2 mM                 | 8 | 45.6 ± 5.6 <sup>a</sup>   | 47.5 ± 2.6 <sup>ab</sup>  | 3.0 ± 0.0 <sup>b</sup>      | 3.3 ± 0.5 | 17.6 ± 0.7 <sup>c</sup>   |
| 4 M 4 mM                 | 8 | 43.1 ± 3.7 <sup>a</sup>   | 46.8 ± 4.5 <sup>abc</sup> | 3.5 ± 0.5 <sup>ab</sup>     | 3.6 ± 0.5 | 18.7 ± 0.7 <sup>abc</sup> |
| 5 C 1 mM                 | 8 | 40.0 ± 7.5 <sup>ab</sup>  | 45.0 ± 3.7 <sup>abc</sup> | 3.8 ± 0.6 <sup>ab</sup>     | 3.5 ± 0.7 | 19.1 ± 0.6 <sup>abc</sup> |
| 6 C 2 mM                 | 8 | 33.1 ± 5.3 <sup>bc</sup>  | 42.5 ± 2.6 <sup>abc</sup> | 4.0 ± 0.5 <sup>a</sup>      | 3.8 ± 0.3 | 19.1 ± 0.9 <sup>abc</sup> |
| 7 C 4 mM                 | 8 | 43.1 ± 4.5 <sup>a</sup>   | 48.1 ± 2.5 <sup>a</sup>   | 3.7 ± 0.7 <sup>ab</sup>     | 3.3 ± 0.5 | 18.3 ± 1.1 <sup>bc</sup>  |
| 8 E 1 mM                 | 8 | 36.2 ± 6.4 <sup>abc</sup> | 41.8 ± 4.5 <sup>abc</sup> | 4.3 ± 0.5 <sup>a</sup>      | 3.8 ± 0.6 | 18.5 ± 0.5 <sup>abc</sup> |
| 9 E 2 mM                 | 8 | 38.7 ± 4.4 <sup>abc</sup> | 43.7 ± 3.5 <sup>abc</sup> | 4.2 ± 0.4 <sup>a</sup>      | 3.6 ± 0.5 | 18.8 ± 0.8 <sup>abc</sup> |
| 10 E 4 mM                | 8 | 36.2 ± 6.4 <sup>abc</sup> | 40.6 ± 4.1 <sup>c</sup>   | 4.1 ± 0.8 <sup>a</sup>      | 4.0 ± 0.5 | 19.3 ± 1.4 <sup>ab</sup>  |
| İstatistik önem kontrolü |   | P<0.05                    | P<0.05                    | P<0.05                      | P>0.05    | P<0.05                    |

<sup>a,b,c</sup> Aynı sütundaki farklı harfler taşıyan ortalamalar arası farklılıklar önemlidir.

### Tartışma ve Sonuç

Spermatolojik parametreler üzerine etkinliği değerlendirilen antioksidanlardan curcumin, yüksek kriyoprotektif ve anioksidatif etkilerinden dolayı çeşitli hücre sistemlerini soğuk şoku ve oksidatif hasara

karşı korumaktadır (1). Bucak ve ark. (4) yaptıkları bir çalışmada Ankara keçisi spermasını curcumin (2.5, 5, 10 mM) içeren tris sulandırıcısıyla sulandırmışlar ve dondurma-çözdürme sonrası 2.5 mM curcuminin % 65±3.0 motilite verdiğini belirtmişlerdir. Sunulan çalışmada sezon içi dondurma-çözdürme sonrası

2 mM curcuminin %55.0±3.7 olarak verdiği motilite değeri, Bucak ve ark. (4)'nin bulunduğu 2.5 mM curcuminin %65±3.0 olarak verdiği motilite değerinden düşük bulunmuştur. Bu durum çalışmalarda kullanılan hayvan türüne, damızlık değerlerine ve kullanılan antioksidan dozuna bağlanabilir. Curcumin hücrelere hızlıca penetre olmakta ve lipofilik özelliklerinden dolayı plazma membranı gibi membranöz yapıların içinde yoğunlaşmaktadır (10). Koç spermatozoonu plazma membranının doymamış yağ asitlerinden zengin olması nedeniyle reaktif oksijen türlerinin etkilerinin oluşturduğu lipid peroksidasyonuna son derece duyarlı olduğu düşünüldüğünde, curcuminin plazma membranı içinde yoğunlaşması dolayısıyla reaktif oksijen türlerinin olumsuz etkilerini minimize etmesi sunulan çalışmada da bu yönde etkinlik gösterdiğini düşündürmektedir. Sunulan çalışmada spermatolojik parametreler üzerine etkinliği değerlendirilen bir diğer antioksidan da metiyonindir. Metiyonin yapısında sülfür grubu taşınması nedeniyle oksidatif strese sebep olan kurşun gibi metallerle şelat oluşturabilmektedir (17). Bu durum metiyoninin oksidatif stres altındaki doku ve hücrelerin oksidasyondan korunması için antioksidan savunma sistemi olarak görev yaptığını göstermektedir (2, 19). Tuncer ve ark. (21), sezon içinde Ankara keçisi spermasını metiyonin (2.5, 5, 10 mM) içeren tris sulandırıcısıyla sulandırmışlar ve dondurma-çözdürme sonrası 2.5 mM ve 5 mM metiyoninin sırasıyla % 63.6 ± 7 ve 63.4 ± 3.1 motilite oranı verdiğini belirtmişlerdir. Bucak ve ark. (4), boğa spermasını metiyonin içeren (2.5, 7.5 mM) tris sulandırıcısıyla sulandırmışlar ve dondurma-çözdürme sonrası 2.5 mM metiyoninin % 41.3 ± 1.8 motilite oranı verdiğini bulmuşlardır. Sunulan çalışmada sezon içinde dondurma-çözdürme sonrası 2 mM metiyonin için elde edilen % 51.2 ± 9.1'lik motilite değeri, Bucak ve ark. (4)'nin 2.5 mM metiyonin için elde ettikleri % 41.3 ± 1.8'lik değerden yüksek, Tuncer ve ark. (21)'nin 2.5 mM metiyonin için elde ettikleri % 63.6 ± 7 oranındaki motilite değerinden ise düşük bulunmuştur. Bunun nedeni çalışmalarda kullanılan antioksidanın farklı dozlarından kaynaklanabileceği gibi, sperması değerlendirilen hayvanların türe özgü farklı spermatolojik özelliklerine sahip olması ve kullanılan sperma sulandırıcılarının içeriklerinin farklı oranlarda olması gibi faktörlere bağlanabilir. Ayrıca yapılan çalışmalardan da görüldüğü gibi antioksidanların etkilerinin spermatozoa motilitesi üzerinde gösterdiği farklı etkiler, spermanın sulandırılması ve dondurulması sırasında uygulanan protokollerden kaynaklanmış olabilir. Sunulan çalışmada kullanılan antioksidanların spermatozoa motilitesi üzerinde farklı oranlarda farklı etki göstermesi de Bucak ve ark. (4) ve Tuncer ve ark. (21)'nin çalışmalarında elde edilen bulgularla uyumluluk göstermektedir. Metiyoninin değinilen etkileri, sunulan çalışmada spermatolojik parametreler üzerinde gösterdiği antioksidatif fonksiyonunu desteklemektedir. Bu çalışmada spermatolojik

parametreler üzerine etkinliği değerlendirilen ellagik asit ise kuvvetli bir antioksidan olup doğal bitki fenolü içerir ve aynı zamanda antitumöjenik ve antikarsinojenik özelliklere sahiptir (7). Ellagik asitin sahip olduğu fenol yapısı nedeniyle serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı savunma rolü üstlendiği düşünülmekte ve bu durum aynı zamanda ellagik asidin antioksidan özelliğiyle kriyoprotektif bir ajan olduğu görüşünü desteklemektedir. Türk ve ark. (22), ratlarda yaptıkları bir çalışmada ellagik asidin epididimal spermatozoon yoğunluğunu ve motilitesini artırdığını, anormal spermatozoon oranlarında artışa sebep olan cisplatinin etkinliğini ise azalttığını belirtmişlerdir. Benzer bir çalışmada da Çeribaşı ve ark. (5), ratlarda adriamisin epididimal sperm parametreleri üzerine gösterdiği olumsuz etkilere ve testislerde oluşturduğu lipid peroksidasyonu ve apoptozise karşı ellagik asidin koruyucu etkinlik gösterdiğini vurgulamışlardır. Ellagik asidin, adriamisin ve cisplatinin sperma hücreleri üzerindeki oksidatif stres etkinliğini azaltması, sunulan çalışmadaki etkisiyle paralellik göstermektedir. Hipo-osmotik şişme testi (HOST), spermatozoonun hücre zarı bütünlüğünü ve işlevselliğini ölçer. Spermatozoon membran bütünlüğü sadece metabolik faaliyetler için değil, aynı zamanda kapasitasyon, akrozom reaksiyonu ve oosit yüzeyine spermatozoonun tutunma olayının gerçekleşmesinde de fonksiyonel bir öneme sahiptir. Bu nedenle membran fonksiyonunun belirlenmesi, spermatozoonun fertilizasyon kapasitesinin bir göstergesidir (11). Jeyendran ve ark. (12), yaptıkları bir çalışmada HOST sonuçları % 50-60'dan yukarı olan ejakülatları normal, %50 ve altında olan ejakülatları anormal olarak sınıflandırmışlardır. Bu çalışmada sezon içi dondurma-çözdürme sonrası gruplarda genel olarak HOST sonuçlarının % 50'den yukarı gözlenmesi, kullanılan spermanın kalitesinin yüksek olduğunu ve kullanılan antioksidanların spermatozoanın fonksiyonel membran bütünlüğünü iyileştirdiğini göstermiştir. Bu özellikteki spermatozoonların uygun tohumlama zamanında etkinlikle kullanılması, başarılı sonuçlar verebileceğini düşündürmektedir. Spermatozoonların normal formundan ayrılması fekondasyon kabiliyetinin azalmasına neden olur. Özellikle ejakülatındaki anormal spermatozoonların oranının %20'yi aşması fertilitayı olumsuz yönde etkiler. Anormal spermatozoonların genel oranı düşük olsa bile başa bağlı bozuklukların oranının %5'in, akrozoma bağlı bozuklukların oranının %10'un, proksimal sitoplazmik damlacıkların oranının %3'ün üzerinde olmaması gerekmektedir. Tuncer ve ark. (21), sezon içinde Ankara keçisi spermasını metiyonin (2.5, 5, 10 mM) içeren tris sulandırıcısıyla sulandırmışlar ve dondurma-çözdürme sonrası metiyonin (2.5 mM)'in % 7.8 ± 1.3'lik oranla akrozoma bağlı anormal spermatozoa gösterdiğini bulmuşlardır. Sunulan çalışmada ise metiyonin (2 mM)'in % 3.0 ± 0.7 oranı ile akrozoma bağlı anormal spermatozoa verdiği görülmüş olup bu değer Tuncer ve ark. (21)'nin bulunduğu değerden düşük gözükmiştir. Yine Bucak ve ark. (3),

sezon içinde Ankara keçisi spermasını curcumin (2.5, 5, 10 mM) içeren tris sulandırıcısıyla sulandırmışlar ve dondurma-çözdürme sonrası curcumin (2.5 mM)'in  $7.8 \pm 1.5$ 'lik oranla akrozoma bağlı anormal spermatozoa gösterdiğini bulmuşlardır. Bu çalışmada ise curcumin (2 mM)'in  $3.3 \pm 0.5$  ile akrozoma bağlı anormal spermatozoa oranı verdiği görülmüştür. Bu oran, Bucak ve ark. (3)'ünün bulduğu orandan düşük olmuştur. Yapılan başka bir çalışmada curcuminin Langerhans adacıklarında kriyoprezervasyonun sebep olduğu reaktif oksijen türlerini engellediği ve bunun da dondurma-çözdürme sonunda adacıklarda daha iyi morfolojik bütünlük sağladığı belirlenmiştir (13). Curcuminin anılan etkisi yapılan çalışmada akrozom üzerine gösterdiği koruyucu etkisiyle örtüşmektedir.

Dondurma-çözdürme sonrası spermatolojik parametrelerde elde edilen bulgular, spermanın sulandırılmasında ve dondurulmasında kullanılan tekniklere, çözüm süresi ve sıcaklığındaki değişimlere veya analizi yapan kişiye bağlı olarak değişim göstermektedir. Tüm bu faktörlerin yanında, tür, ırk, mevsim ve birey gibi etkenler de spermatozoon motilitesi, HOST değeri ve anormal oranları üzerine önemli etkilere sahiptir.

Spermatozoonda mitokondriyel kılıf tarafından sarılan aksonem ve fibril yapıların spermatozoon motilitesi için gerekli ATP üretimini sağladığından hareketle (8), bu çalışmada sperma sulandırıcısına katılan antioksidanlardan metiyoninin spermatozoonların fonksiyonel membran yapılarını koruyarak ve dolayısıyla motiliteyi iyileştirerek etkin bir işlev gördüğü sonucu çikartılabilir.

Sezon dışı dondurma-çözdürme sonrasında curcuminin membran bileşenlerini soğuk şoku ve oksidatif stres hasarlarından koruyarak membran bütünlüğünü sağladığı görüldü. Anormal spermatozoa başı oranlarında sezon içinde ellagik asidin, curcumin ve metiyonine göre daha iyi koruyucu etkinlik gösterdiği gözlenirken sezon dışında ise metiyoninin, curcumin ve ellagik aside göre daha iyi sonuçlar verdiği görüldü.

Sonuç olarak, farklı dönemlerde kullanılan antioksidanların ve değişen molaritelerinin, değinilen spermatolojik parametreler üzerinde farklı etkinlik gösterdiği belirlendi. Bu durum, yapılan çalışmanın antioksidanların spermatolojik parametreler üzerine spesifik etkinliğinin anlaşılabilmesi yönünde bir fikir verebilmesi açısından anlamlı olduğunu göstermiştir. Literatür taramalarında söz konusu antioksidanların spermatolojik parametrelere dair verilerine fazlaca rastlanmadığından, konuyla ilgili başka çalışmaların yapılmasına gereksinim duyulmaktadır. Ayrıca yapılacak araştırmalarda in vitro muayene parametrelerinin, in vitro/vivo fertilité parametreleriyle de desteklenmesi gerekmektedir.

## Teşekkür

"Sezon içi ve sezon dışında koç spermasının dondurulmasında antioksidanların etkisi" adlı tez projesinin (Proje no:09102041) yürütülmesinde bütçe desteği sağlayan S.Ü. BAP Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederiz.

## Kaynaklar

1. Abuarqoub H, Green CJ, Foresti R, Motterlini R. Curcumin reduces cold-storage-induced damage in human cardiac myoblasts. *Exp Mol Med* 2007; 39(2): 139-48.
2. Atmaca G. Antioxidant effects of sulfur-containing amino acids. *Yonsei Med J* 2004; 45(5): 776-88.
3. Bucak MN, Sarıözkan S, Tuncer PB, Sakin F, Ateşşahin A, Kulaksız R, Çevik M. The effect of antioxidants on post-thawed Angora goat (*Capra hircus ancyrensis*) sperm parameters, lipid peroxidation and antioxidant activities. *Small Rumin Res* 2010a; 89(1): 24-30.
4. Bucak MN, Tuncer PB, Sarıözkan S, Başpınar N, Taşpınar M, Çoyan K, Bilgili A, Akalın PP, Büyükleblebici S, Aydos S, Ilgaz S, Sunguroğlu A, Öztuna D. Effects of antioxidants on post-thawed bovine sperm and oxidative stress parameters: Antioxidants protect DNA integrity against cryodamage. *Cryobiology* 2010b; 61(3): 248-53.
5. Çeribaşı AO, Sakin F, Türk G, Sönmez M, Ateşşahin A. Impact of ellagic acid on adriamycin-induced testicular histopathological lesions, apoptosis, lipid peroxidation and sperm damages. *Exp Toxicol Pathol* 2012; 64(7-8): 717-24.
6. D'Alessandro AG, Martemucci G. Evaluation of seasonal variations of semen freezability in Leccese ram. *Anim Reprod Sci* 2003; 79(1-2): 93-102.
7. Edderkaoui M, Odinkova I, Ohno I, Gukovsky I, Go VL, Pandol SJ, Gukovskaya AS. Ellagic acid induces apoptosis through inhibition of nuclear factor kappa B in pancreatic cancer cells. *World J Gastroenterol* 2008; 14(23): 3672-80.
8. Garner DL, Hafez ESE. Spermatozoa and seminal plasma. Hafez ESE. eds. In: *Reproduction in Farm Animals*. Philadelphia: Lea&Febier, 1993; pp. 167-82.
9. Gökçen H, Aştı RN, Çekgöl E, Şener E. Prostaglandin F2 alfa ve Vit E katılarak dondurulan koç spermalarında akrozom morfolojisi ve dölverimi üzerinde araştırmalar. *Uludağ Üniv Vet Fak Derg* 1985; 4(1): 1-3.

10. Jaruga E, Salvioli S, Dobrucki J, Chrul S, Bendorowicz-Pikula J, Sikora E, Franceschi C, Cossarizza A, Bartosz G. Apoptosis-like, reversible changes in plasma membrane asymmetry and permeability, and transient modifications in mitochondrial membrane potential induced by curcumin in rat thymocytes. *FEBS Lett* 1998; 433 (3): 287-93.
11. Jeyendran RS, Van der Ven HH, Perez-Pelaez M, Crabo BG, Zaneveld LJD. Development of an assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics. *J Reprod Fertil* 1984; 70(1): 219-28.
12. Jeyendran RS, Van der Ven HH, Zaneveld LJD. The hypoosmotic swelling test: An update. *Arch Androl* 1992; 29(2): 105-16.
13. Kanitkar M, Bhonde RR. Curcumin treatment enhances islet recovery by induction of heat shock response proteins, Hsp70 and heme oxygenase-1, during cryopreservation. *Life Sci* 2008; 82(3-4): 182-9.
14. MacLeod J. The role of oxygen in the metabolism and motility of human spermatozoa. *Am J Physiol* 1943;138(1): 512-8.
15. Özata M, Yılmaz Mİ, Mergen M, Öktenli Ç, Aydın A. Erkek obezitesinde bozulmuş antioksidan kapasite ve hipoçinkonemi. *Turk J Endoc Met* 2003; (2): 47-51.
16. Öztürkler Y, Ak K, İleri İK. Koç spermasının yoğun gliserollü sulandırıcılarda dondurulması. *İstanbul Üniv Vet Fak Derg* 1999; 25 (2): 399-414.
17. Parcell S. Sulfur in human nutrition and applications in medicine. *Altern Med Rev* 2002; 7(1): 22-44.
18. Smith JF, Asher GW, Briggs RM, Murray GR, Morrow CJ, Oliver JE, Parr J, Veldheuzen FA, Upreti GC. Effect of diluent and storage time on pregnancy rate in ewes after intrauterine insemination. *Proc N Z Soc Anim Prod* 1993; 53(1): 295-8.
19. Stadtman ER, Van Remmen H, Richardson A, Wehr NB, Levine RL. Methionine oxidation and aging. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1703(2): 135-40.
20. Tekin N, Uysal O, Akçay E, Yavaş İ. Farklı taurin dozlarının ve dondurma hızının koç spermasının dondurulması üzerine etkileri. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 2006; 53(1): 179-84.
21. Tuncer PB, Bucak MN, Sarıözkan S, Sakin F, Yeni D, Çiğerci İH, Ateşşahin A, Avdatek F, Gündoğan M, Büyükleblebici O. The effect of raffinose and methionine on frozen/thawed Angora buck (Capra hircus ancyrensis) semen quality, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities. *Cryobiology* 2010; 61(1): 89-93.
22. Türk G, Ateşşahin A, Sönmez M, Çeribaşı AO, Yüce A. Improvement of cisplatin-induced injuries to sperm quality, the oxidant-antioxidant system, and the histologic structure of the rat testis by ellagic acid. *Fertil Steril* 2008; 89 (5): 1474-81.
23. Watson PF. Recent developments and concepts in the cryopreservation of spermatozoa and the assessment of their post- thawing function. *Reprod Fertil Dev* 1995; 7(4): 871-91.
24. Windsor PP, Szell AZ, Buschbeck C, Edward AY, Milton TTB, Buchrell BC. Transcervical artificial insemination of Australian Merino ewes with frozen-thawed semen. *Theriogenology* 1994; 42(1): 147-57.

**Yazışma Adresi:**

Yrd. Doç. Dr. Ali Doğan ÖMÜR  
 Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
 Dölerme ve Suni Tohumlama AD  
 25240, Erzurum, Türkiye.  
 Tel: +90 442 2315552; fax: +90 442 231 55 63  
 e - posta: alidogan@atauni.edu.tr (Omur AD)





## Propolis ve Fenolik Asitlerin Ruminant Beslemede Kullanımı

Kanber KARA<sup>1</sup>, Berrin KOCAOĞLU GÜÇLÜ<sup>1</sup>, Fatma KARAKAŞ OĞUZ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, 38039, Kayseri-TÜRKİYE

<sup>2</sup>Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, 15030, Burdur-TÜRKİYE

**Özet:** Propolis, bal arılarının (*Apis mellifera*) bitkilerden topladığı reçinemi maddeleri ve bitki salgılarını, enzimleriyle biyokimyasal değişikliğe uğratıp bir miktar bal mumu karıştırarak oluşturdukları organik bir maddedir. Antibakteriyel, antiviral, antifungal, antioksidan, antitümör, antiinflatuar, immun modülatör ve analjezik etki gibi çok sayıda biyolojik aktiviteye sahip olması nedeniyle tıpta, diş hekimliğinde, kozmetikte ve ilaç sanayinde kullanım alanı bulmuştur. Bu belirtilen olumlu etkileriyle propolis ve propolisin aktif bileşiklerinden olan fenolik asitlerin ruminant yemlerinde katkı maddesi olarak kullanımıyla ilgili çalışmalar artmıştır. Bu çalışmalarda propolis ve fenolik asitler belirgin olarak rumendeki metan (CH<sub>4</sub>) üretimini ve amonyak (NH<sub>3</sub>-N) miktarını azaltmıştır. Bunun yanında özellikle kuzu ve buzağılarda yemden yararlanma ve büyümeyi; besi sığırlarında canlı ağırlık, günlük canlı ağırlık kazancı, yemden yararlanma ve karkas ağırlığını olumlu yönde etkileyecek potansiyele sahip olduğu belirtilmiştir. Ayrıca süt sığırlarında sütün antioksidan kapasitesini arttırmasının yanında konjuge yağ asiti ve tekli doymamış yağ asiti düzeyini yükselttiği, doymuş yağ asiti ile n-6/n-3 yağ asiti oranını düşürdüğü; besi sığırlarında ise etteki linoleik asit (C18:2 n-6) düzeyini yükselttiği böylece hayvansal ürünlerin kalitesinin arttırılmasında önemli bir potansiyele sahip olduğu ifade edilmektedir. Sonuç olarak, yapılan çalışmalarda propolis ve aktif bileşiklerinin ruminantlarda performans, hayvansal ürünlerin kalitesini ve raf ömrünü arttırmak amaçlı alternatif ve doğal bir yem katkı maddesi olarak kullanılabilirliği ile metan üretimini azaltarak küresel ısınmayı önlemedeki etkinliği bakımından önemi ortaya koyulmuştur. Ancak, bu konuda daha ayrıntılı çalışmalara da ihtiyaç olduğu kanaatine varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Fenolik asit, metan, performans, propolis, yem katkısı

### Use of Propolis and Phenolic Acids in Ruminant Nutrition

**Summary:** Propolis is an organic material including resinous substances and plant secretions collected by bees (*Apis mellifera*) from plant, making the biochemical changes by bee's enzymes and also including some wax. It has been used in medicine, dentistry, cosmetics and pharmaceutical industry due having a number of biological activate such as antibacterial, antiviral, antifungal, antioxidant, antitumor, anti-inflammatory, analgesic, and immune modulator. Due to these positive effects, there has been an increase in the number of studies using propolis and the phenolic acids of its active compounds as additives in ruminant feeding. In these studies, it was reported that propolis and phenolic acids could reduce the amount of methane (CH<sub>4</sub>) and ammonia (NH<sub>3</sub>-N) produced in the rumen. In addition, it has the potential to have positive impacts on the feed efficiency and growth in lambs and calves; live weight, daily live weight gain, feed efficiency and carcass weight in beef cattle. Moreover, propolis and phenolic acids of its active compounds have potential to enhance the quality of the animal products by increasing the antioxidant capacity, the level of conjugated fatty acids and monounsaturated fatty acids and reducing the saturated fatty acids and n-6/n-3 fatty acid ratio of milk in dairy cows and increasing the level of linoleic acid (C18:2 n-6) of meat in beef cattle. It can be concluded that propolis and phenolic acids of its active compounds, can be used as an alternative and natural feed additive to increase performance in ruminants, and the quality and shelf life of ruminant products (milk and meat). It was also noted they may be an effective strategy to prevent global warming by reducing the methane production. However, it can be suggested that more detailed studies on this subject are needed.

**Key Words:** Feed additive, methane, performance, phenolic acids, propolis

### Giriş

Yunanca'dan (pro=ilk yada savunma, polis=şehir) gelen bir kelime olan propolis, bal arılarının (*Apis mellifera*) çam, meşe, huş, okalıptus, kavak, kestane ve ak ağaç gibi ağaçlar ile bazı otsu bitkilerin filiz, dal ve tomurcuklarından topladığı reçinemi maddeleri ve bitki salgılarını, enzimleriyle biyokimyasal değişikliğe uğratıp bir miktar bal mumu karıştırarak oluşturdukları

ve kovan içinde birçok amaçla kullanılan organik bir maddedir. Arılar kovanın girişini hem yapışkan hem de çimento gibi sert olabilen bu materyalle kaplayarak dış etmenlere karşı kovanın korunmasını sağlamaktadır (4,35,64). Propolisin antibakteriyel, antifungal, antioksidan, antiinflatuar, antiviral, antitümör, analjezik, immun stimulatör ve rejeneratif etkilere sahip olduğu bildirilmektedir (6,9,14,27,30,39). Propolisin ifade edilen biyolojik etkinliği yapısında bulunan flavonoidler, fenolik asitler ve fenolik asit esterli ile terpenlerden kaynaklanmaktadır (8,39).

### Propolisin Yapısı

Ham propolisin yapısında yaklaşık %40-60 reçine ve bitkisel balsam (fenoller, fenolik asitler, esterler,

Geliş Tarihi / Submission Date : 08.02.2013

Kabul Tarihi / Accepted Date : 03.06.2013

Bu derleme Turkish congress, expo and workshops on honey and honeybee products with international participation, Erciyes University Sabancı Congress Center, 22-26th February 2012 kongresinde poster olarak sunulmuş ve özeti bildiri kitabında yer almıştır.

flavanonlar, dihidroflavanonlar, flavonlar, flavonoller, chalkonlar, fenolik gliseritler, alifatik ve fenolik asitler, alkoller, aldehitler ve ketonlar), %20-35 balmumu, %5 esansiyel yağlar (mono ve sequiterpenler), %5 polen ve %5 mineraller (Ca, Mg, K, Na, Fe, Cu, Zn, Mn) ve diğer organik maddeler bulunduğu bildirilmekle birlikte (4,34,64) propolisin yapısındaki bileşiklerin tür ve düzeyleri elde edildiği bal arısının ırkına (35), bitki türüne, bitkinin yetiştiği coğrafik bölgeye ve mevsime (52) göre değişebilmektedir. Arılar propolisi, çeşitli bitki türlerinden yararlanarak oluşturmaktadırlar. Arılar, ılıman iklim yaşanan ülkelerde (Türkiye gibi) çoğunlukla kavak ağaçlarından (*Populus spp*), (Tablo 1) sıcak iklim yaşanan ülkelerde (Brazilya, Şile, Arjantin gibi) çeşitli orman çamı (*Araucaria spp*) ve süpürge otu türlerinden (*Baccharis spp*), soğuk iklim yaşanan ülkelerde (Rusya gibi) akağaç türlerinden (*Betula verrucosa*) topladıkları bazı bileşikler oluşturdukları

propolisin yapısında bulundurmaktadırlar (4,34,71). Farklı coğrafi bölgelerin propolislerinin içermiş olduğu karakteristik bileşikler Tablo 2 'de verilmiştir. İki farklı propolis tipi olan Poplar (kavak orjinli) ve Baccharis (süpürge otu orjinli) propolislerinin içerdiği bileşiklerin farklılığına bağlı olarak, etkisinin ve etken maddesinin değişebildiği Tablo 3 'de gösterilmiştir.

Propolis soğukta katı ve kırılğan, sıcakta ise yumuşak ve yapışkan olup, 15-25°C arasında ise mum gibi elastik bir yapıdadır. Propolisin rengi, elde edildiği bitkinin kaynağına bağlı olarak açık sarı, yeşil ve koyu kahverengine kadar değişim gösterebilmektedir. Propolis, eter, kloroform, aseton ve diğer organik çözücülerde kısmen, %95'lik alkolde büyük ölçüde eriyebilmektedir. Ancak suda çok az veya hiç erime göstermez (4,34,64).

**Tablo 1.** Poplar tip (kavak orjinli) propolis örneğinde tespit edilen başlıca bileşikler (60)

| Bileşikler                                | RT    | TIC   |
|---|-------|-------|
| <b>Flavonoidler</b>                       |       |       |
| Krisin                                    | 52.51 | 7.55  |
| <b>Alifatik, aromatik ve yağ asitleri</b> |       |       |
| Benzoik asit                              | 9.06  | 0.40  |
| Ferulik asit                              | 41.33 | 3.27  |
| Kafeik asit                               | 29.18 | 1.23  |
| Heksadekanoik asit (palmitik asit)        | 33.56 | 0.33  |
| 2-propenoik asit                          | 29.39 | 2.97  |
| 3,4-dimetoksi sinnamik asit               | 30.64 | 0.35  |
| <b>Esterler</b>                           |       |       |
| Benzil benzoat                            | 26.83 | 0.35  |
| <b>Terpenler</b>                          |       |       |
| Alfa ödesmol                              | 24.20 | 0.83  |
| Alfa bisabolol                            | 24.91 | 2.57  |
| Beta ödesmol                              | 24.06 | 0.58  |
| <b>Aldehit, keton ve diğerleri</b>        |       |       |
| 2-metoksi-4-vinil-fenol                   | 12.97 | 0.98  |
| 4-vinilfenol                              | 10.33 | 0.37  |
| Gliserin                                  | 5.46  | 2.62  |
| Limonen                                   | 7.17  | 0.28  |
| Kadinen                                   | 23.44 | 0.60  |
| Trikosan                                  | 44.32 | 0.62  |
| 2,4-sikloheptadien-1                      | 53.93 | 6.73  |
| 1H-benzimidazol-2-metanol                 | 53.57 | 3.03  |
| 2-propen-1                                | 45.37 | 12.20 |
| Benzen                                    | 47.36 | 21.47 |
| 4H-1-benzopiran-4                         | 50.56 | 1.89  |

RT: Retention Time (Hafız zamanı) TIC: The ion current (lyon akışı)

**Tablo 2.** Farklı coğrafi orijinlerine göre propolislerin içermiş olduğu karakteristik bileşikler (71)

| Coğrafi orijin              | Bitki kaynağı                   | Karakteristik bileşikler  |
|-----------------------------|---------------------------------|---|
| Avrupa, Asya, Kuzey Amerika | <i>Populus spp.</i> (poplar)    | Pinocembrin, pinobanksin, pinobanksin-3-O-asetat, krisin, galanjin, kafeatlar (benzil, feniletil, prenil) |
| Kuzey Rusya                 | <i>Betula verrucosa</i> (birch) | Asasetin, apijenin, ermanin, ramnositrin, kaempferid, $\alpha$ -asetoksibetulenol                         |
| Brezilya                    | <i>Baccharis spp.</i>           | Prenilat p-kumarik asitler  |
|                             | <i>Araucaria spp.</i>           | Prenil asetofenonlar, diterpenik asit   |
| Kanarya Adaları             | Bilinmiyor                      | Furoruran lignanlar   |

**Tablo 3.** Poplar ve Baccharis propolislerinin biyolojik aktif bileşikleri (4)

| Biyolojik aktiviteleri | Propolis tipi    | Aktif bileşik  |
|------------------------|------------------|--|
| Antibakteriyel         | <i>Poplar</i>    | Flavononlar, flavonlar, fenolik asitler ve esterleri   |
|                        | <i>Baccharis</i> | Prenilat p-kumarik asitler, labdane diterpenler  |
| Antifungal             | <i>Poplar</i>    | Pinosembrin, galangin, benzoik asit, salisilik asit, vanillin  |
|                        | <i>Baccharis</i> | Mono ve sesquiterpenler, artipellin C  |
| Antiviral              | <i>Poplar</i>    | Polifenoller, fenil karboksilik asitler, sinamik asit esterleri, kafeik asit, quersetin, luteolin, fisetin, quersajetin      |
|                        | <i>Baccharis</i> | -  |
| Antioksidan            | <i>Poplar</i>    | Farklı flavonoid fenolikler ve esterleri   |
|                        | <i>Baccharis</i> | -  |
| Radyasyondan koruyucu  | <i>Poplar</i>    | -  |
|                        | <i>Baccharis</i> | Farklı prenilat p-kumarik asitler, flavonoidler  |
| Karaciğer koruyucu     | <i>Poplar</i>    | Farklı flavonoidler, kafeik asit feniletil esteri, ferulik asit, kafeik asit   |
|                        | <i>Baccharis</i> | Farklı prenilat p-kumarik asitler, flavonoidler, lignanlar   |
| Antikanser / antitümör | <i>Poplar</i>    | Kafeik asit, kafeik asit feniletil esteri, apigenin, quercitin, genistein  |
|                        | <i>Baccharis</i> | Artipellin C, baccharin, drupanin, sinamik asit derivatları, prenilat p-kumarik asitler, klerodan diterpenler, benzofuranlar |
| İmmunmodülatör         | <i>Poplar</i>    | Kafeik asit feniletil esteri, krisin, benzilkafeat, feniletilferrulat, sinamik asit  |
|                        | <i>Baccharis</i> | Kafeoilquinik asit derivatları, klerodan diterpenler, artipellin C   |
| Anti inflammatuar      | <i>Poplar</i>    | Flavononlar, flavonlar, fenolik asitler ve esterleri   |
|                        | <i>Baccharis</i> | Artipellin C   |
| Kalp koruyucu          | <i>Poplar</i>    | Kafeik asit feniletil esteri, asasetin, krisin, quersetin  |
|                        | <i>Baccharis</i> | Kafeoilquinik asit   |
| Antiülser              | <i>Poplar</i>    | Kafeik asit, pinosembrin, galanjin, krisin   |
|                        | <i>Baccharis</i> | Ferulik asit, p-kumarik asit ve sinamik asit   |

Propolis üzerine son 40 yılda yapılan çalışmalarda sağlık üzerine faydalı olan bileşikler (flavonoidler, fenolik asitler ve fenolik asit esterli ile terpenler gibi), ham propolisin balsam kısmında bulunmakta ve bu bileşikler ham propolisten etanolle ekstrakte edilebilmektedir. Çalışmalarda propolisin %60-80 oranındaki etanol ekstraktlarının biyolojik aktivitelerinin, bu orandan daha yüksek (%90 ve 95) ya da düşük (%10, 20, 30, 40 ve 50) yüzdedeki etanol ekstraktlarına göre daha olumlu olduğu belirlenmiştir (50,51). Propolis üzerine yapılan çalışmaların çoğunda yaklaşık %70 oranındaki etanol ekstraktının biyolojik aktivitesi üzerinde yoğunlaşmış olmakla birlikte, propolisin alkol ekstraktı formunun dışında ham haldeki formu ve içerdiği flavonoidlerin kullanılabilirliği üzerinde de durulmuştur.

### Ruminant Beslemede Propolis Kullanımı

Sentetik yem katkı maddelerinin üretimin her dalında rağbet görmemesi üreticileri tamamen doğal kaynaklara yönlendirmiştir. İnsanların sağlıklı beslenmesi için önemi aşikâr olan hayvansal ürünlerin miktar ve kalitesini arttırmak ve ekonomik yönden en yararlı olacak şekilde beslenmesi için çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Ruminant beslemede performans, ürün kalitesi ve çevre göz önüne alınarak çeşitli alternatif yem kaynakları (pamuk tohumu, aspir gibi) denenmiş ve olumlu sonuçlar alınmıştır (29,33,45). Bu amaçla kullanılan yem katkı maddeleri ise, çeşitli bitki ekstraktları (kekik, yucca, çay gibi), bitkisel yağlar ve yağ asitleri, organik asitler (malik asit, fumarik asit gibi), probiyotikler (*Saccharomyces spp*, *Aspergillus spp*, *Lactobacillus spp*) ve prebiyotikler (mannan oligosakkarit, inulin, fruktan)'dir (17,31,32,44,47). Yine doğal bir ürün olan propolisin, kanatlı hayvan yemlerinde kullanımının yem tüketimi, canlı ağırlık, yemden yararlanma (14,57-59), yumurta ağırlığı, kabuk kalınlığı ve kabuk direnci ile döllü yumurta oranı ve kuluçka randımanını (14,60) artırıcı etkisi çalışma bulgularıyla desteklenmekle birlikte, son yıllarda propolis ekstraktı veya içermiş olduğu bileşiklerin ruminantlarda gösterebileceği etkiler üzerinden çalışmalar (53-55,62) yapılmaktadır.

### Rumen Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi

Rumen ortamında bulunan bakterilerin düzeyi (selüloolitik, hemiselüloolitik, pektinolitik ve eriyebilir şekerleri fermente edenler) uçucu yağ asitlerinin (UYA) ve mikrobiyal proteinin üretimine bağlı olarak değişebilmektedir. Selüloolitik bakterilerin (asetat ve metan üreten) çoğu gram pozitif, propiyonat üretenler ise gram negatiftir (41). Antunes ve ark. (3) propolisin aerobik gram pozitif bakterilere karşı antibakteriyel etkisinin aerobik gram negatiflerden daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Prado ve ark. (53) farklı yoğunlukta propolis ihtiva eden örneklerin ruminal bakteriler üzerine etkisini in vitro olarak araştırdıkları

çalışmalarında; propolis örneklerinin gram pozitif bakteri türlerine karşı etkinliklerinin daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Propolisin antimikrobiyal etkisinin yapısındaki pinosembrin, galangin, pinosilvin ve pinobanksin gibi flavonoidler, sinnamiliden asetik asit, benzil p-kumarat ve kafeik asit esterlerinden ileri geldiği belirtilmektedir (18,61). Çalışmalarda belirlendiği gibi propolis hem aerobik hem de anaerobik gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı antibakteriyel etkiye sahiptir.

Arının polen ve özlerinden yararlanmış olduğu bitkiye (türüne, mevsime ve bölgeye) göre ürettikleri propolisin yapısındaki aktif bileşiklerin (flavonoidler, fenolik asitler gibi) çeşit ve oranı da değişebilmektedir (52). Fenolik asitler propolisin yanında fenolik bileşikler ihtiva eden birçok bitki türünde de bulunmaktadır (28,40). Ruminant beslemede kullanılan kaba yemlerde az düzeyde de olsa fenolik asitler bulunmakla beraber en yaygın olanı polisakkaritlere ester bağları ile bağlı olan hidroksi sinamik asitlerdir (8,16,69). Ferulik ve p-kumarik asitler bu formda bulunan önemli fenolik asitler olup, kuru otun hücre duvarı ağırlığının %2.5 ve üstünde bulunabilmektedir (16). Yapısal karbonhidratlar bakımından zengin olan kaba yemlerdeki bu lif unsurları rumen ortamındaki anaerobik bakteri ve mantarlar ile protozoalar tarafından fermente edilmektedir (23). *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Fibrobacter succinogenes* ve *Butyrivibrio fibrisovens* gibi selüloolitik bakteriler rumendeki bitki materyallerine yapışır ve yapısındaki lif unsurlarının sindiriminden büyük ölçüde sorumludur (32). Fenolik bileşiklerin antibakteriyel etkiye sahip olduğu yapılan çalışmalarda (7,37) belirlenmiş olup, Varel ve Jung (69) in vitro çalışmalarında p-kumarik asitin *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens*'in büyümesi üzerine toksik etkiye sahip olduğu ve bu mikroorganizmaların büyümesini engelleyici etkilerinin sırasıyla p-kumarik asit > vanillin > ferulik asit > sinamik asit şeklinde olduğunu belirlemişlerdir. Diğer yapılan bir çalışmada ise rumen bakteri ve protozoalarına fenolik asitlerin toksik etkisinin sırasıyla p-kumarik asit > ferulik asit > sinapik asit şeklinde olduğu belirlenmiştir (2). Rumen ortamındaki bu mikroorganizmaların, bitki unsurlarındaki lif yapılarını sindirmesi esnasında fenolik asitlerle karşılaşır, bu fenolik asitlerin mikroorganizmaların etkinliğini / aktivasyonunu engelleyerek yemlerin sindirilebilirliklerini olumsuz etkileyebilecekleri düşünülmektedir. Ancak yapılan in vitro bir çalışmada rumen sıvısına yüksek oranda fenolik asit ilavesinin organik madde sindirimini olumsuz yönde etkilemediği belirlenmiş olup (23), fenolik asitin düzeyi ve çeşidi de bunda etkili olduğu yapılan çalışmalarda (22,23) görülmektedir. Yapılan başka bir çalışmada pamuk tohumu küspesinin tannik asitle muamelesinin (%3, 6 ve 9) in vivo ham protein (HP) sindirime derecesini olumsuz yönde etkilediği belirlenmiştir (33).

Çalışmalarda genel olarak, propolis ve fenolik asitlerin özellikle gram pozitif bakteriler (selülolitik bakterilerin; asetat ve metan üreten) üzerine olumsuz etkiye sahip olarak yemlerdeki lif sindirimini düşürdüğü belirlenmiştir.

### Rumendeki Metan Üretimi Üzerine Etkisi

Ruminant yemlerindeki karbonhidrat unsurları rumendeki mikrobiyal aktiviteyle fermente edilerek, UYA 'lerine (asetik, propiyonik ve bütirik asit) dönüşürler. Ancak rumende yemlerin sindirimi tam olarak gerçekleşmeyip, örneğin alınan selülozun %20-70'i ruminant tarafından değerlendirilemeyip dışkıyla dış ortama atılmaktadır (70). Aynı zamanda rumendeki mikrobiyal sindirimin son ürünleri arasında UYA 'lerinin yanında, hidrojen ve karbondioksit (CO<sub>2</sub>) gazı da bulunmakta olup açığa çıkan hidrojen metanojenik bakterilerce kullanılarak metan (CH<sub>4</sub>) gazına dönüştürülür (24,41). Rumende propiyonik asit üretimi artırıldığında, metanı oluşturan hidrojen ve formik asitin rumen ortamındaki düzeyinin azaltılmasıyla metanogenezis düşürülebilir (24,32,38). Rumen ortamında metan üreten (metanojenik) bakteriler, rumen siliatalarının (protozoa) dış yüzeyinde bulunmakta ve endosimbiyotik olarak yaşamaktadır (19,41). İlk olarak rumendeki metanın %9-25'inin üretiminden sorumlu olan siliataların rumen ortamında azaltılmasıyla (defaunizasyon) metanogenezis azaltılabilir (42). Rumen siliataları, rumendeki lif unsurlarının fermentasyonunda aktif rol oynamakta olup (10), defaunizasyon ile rumende lif unsurlarının sindirimine istenmeyen bir etki (25) oluşturabilmektedir. Aynı zamanda rumendeki protozoonlar, bazı rumen bakterilerini içine alıp sindirmesiyle rumenden mikrobiyal proteinlerin duodenuma geçişinin azalmasına ve netice de hayvanın performansının olumsuz etkilenmesine sebep olabilmektedir (41). Rispoli ve ark. (55) %50 mısır silajı + %50 konsantre yemle beslenen buffalolarda rumendeki siliataların sayısının propolis ekstraktıyla azaltıldığını bildirmişlerdir. Jayanegara (23) fenolik asitlerin (5 mM) (benzoik, sinamik, fenilasetik, kafeik, p-kumarik ve ferulik asit) in vitro gaz ve metan üretimini organik madde sindirimi, kısa zincirli yağ asitleri (asetat, propiyonat, bütirat, valerat, iso-bütirat, iso-valerat) düzeyi ile asetat/propiyonat oranına etkisini araştırdıkları çalışmada; in vitro gaz ve metan üretimini kafeik, p-kumarik ve ferulik asitin (5 mM) önemli oranda azalttığını, metan üretimi uçucu yağ asitlerinin etkisinin kafeik asit > p-kumarik asit > ferulik asit > sinamik asit şeklinde olduğunu, bu yağ asitlerinin organik madde sindirilebilirliği üzerine olumsuz bir etkisinin olmadığını ve kafeik ve p-kumarik asitin (5 mM) asetat, propiyonat, bütirat ve valerat düzeyini azalttığını belirlemişlerdir. Aynı zamanda fenolik maddelerce zengin yemlerin protozoonları baskıladığını ve metan ile toplam gaz

üretimini azalttığını da ortaya koyan çalışmalar vardır (41,43,72). Propolis ekstraktlarının yapılan bazı çalışmalarda rumendeki protozoalar üzerine önemli bir etkisinin olmadığı da bildirilmektedir (5,48).

Çalışmalarda propolis ekstraktı ve fenolik asitlerin rumendeki siliataların sayısını azaltıp, metan üretimini düşürücü potansiyele sahip olduğu saptanmıştır.

### Rumendeki Amonyak Üretimi Üzerine Etkisi

Rumen mikroorganizmaları yemlerdeki proteinleri peptitlere ve aminoasitlere kadar parçalar ve daha sonra bu azotlu bileşiklerden amonyak üretimini sağlayabilmektedir (66). Amonyakın büyük bölümü rumen epitelinden emilir ve rumeno-hepatik azot siklusuyla tekrar rumene gelir. Bu azotlu bileşiği rumen mikroorganizmaları mikrobiyal protein sentezinde kullanabilirler. Ancak yemle alınan proteinin tamamının rumenden parçalanması istenmez, belli kısmının rumende değişikliğe uğramadan (bypass protein ya da by-pass aminoasit) duodenuma ulaşıp burada monogastrik hayvanlardaki gibi protein sindirime uğrayıp aminoasitlerin duodenum epitelinden emilmesi istenir. Oliveira ve ark. (46) aminoasitlerin ruminal fermentasyonu üzerine monensin ve propolis etkisinin in vitro olarak araştırıldıkları çalışmalarında propolisin ruminal amonyak üretimini azalttığını ve monensinden daha etkin olduğunu belirlemişlerdir. Öztürk ve ark. (48)'nin propolis ve nisin rumen fermentasyonu üzerine etkisini in vitro olarak araştırdıkları çalışmalarında; propolis ve nisin ruminal NH<sub>3</sub>-N konsantrasyonunu azalttığını belirlemişlerdir. Öztürk ve ark. (49) iki farklı yoğunlukta (%20 ve %60) propolis etanolik ekstratlarının in vitro olarak ruminal bütirat üretimini artırdığını ve ruminal bakterilerin toplam sayısını ve NH<sub>3</sub>-N konsantrasyonunu (sırasıyla yaklaşık %24 ve %39'luk) azalttığını belirlemişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada Holstein erkek sığırlarda konsantre yeme propolis ekstraktı ilavesinin kuru madde tüketimi, rumendeki pH, amonyak ve mikrobiyal protein konsantrasyonu ile rumen sıvısında asetik, propiyonik ve bütirik asit oranı üzerine önemli bir etkisinin olmadığını belirlemişlerdir (26). Propolisin rumendeki NH<sub>3</sub>-N konsantrasyonunu azaltıcı etkisinin aminoasitlerin deaminasyonun azalmasından ve/veya amino asitleri fermente eden bakterilerin gelişim ve büyümesinin azalmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir (48).

Bu araştırmalardan elde edilen sonuçlar doğrultusunda propolisin ruminal amonyak üretimini azaltmada ve ruminal azot değerlendirilebilirliğini iyileştirmede kullanılabilecek bir katkı maddesi olabileceğini göstermektedir.

### Ruminantlarda Performans Üzerine Etkisi

Ruminantlarda performansı artırmak için çeşitli büyüme promotörleri ve antibiyotikler yemlere ilave edilmekteydi. İyonofor antibiyotikler (monensin, lasalosid ve sonilomisin gibi) rumendeki fermentasyonu olumlu yönde etkileyerek, performanstaki faydalı etkileri nedeniyle yaygın şekilde kullanılmıştır (15). Ancak antibiyotik yem katkı maddelerinin Avrupa Birliği ülkelerinde 1 Ocak 2006 tarihinden itibaren yasaklanmasıyla birlikte yetiştiricilere doğal yem katkı maddelerinin kullanımının faydalarını ortaya koymak ve alternatif olabileceğini göstermek için araştırılan doğal yem katkı maddelerinden birisi de propolistir. Son yıllarda propolisin bakterilerin hücre duvarı, sitoplazmik membran ve sitoplazmasının yapısını bozması ayrıca bakteriyel RNA polimeraz üzerine olan olumsuz etkisiyle özellikle gram pozitiflere karşı antibakteriyel etkiye sahip olması (53,63), rumendeki siliyalara karşı antiprotozoal etki göstererek metan üretimini azaltıp yemdeki enerjinin israfına engel olması (42,55), ruminal amonyak üretimini azaltması (46,48,49), serbest radikaller ile şelatlar oluşturarak antioksidan etki göstermesi (11,52), hiyaluronidaz enzim aktivitesini azaltıcı etkinliği ile antiinflamatuvar etki göstermesi (50), Bifidobacterim'ların sayısını arttırıcı etkinliği ile prebiyotik özellik göstermesi (13), aflatoksinlere karşı karaciğeri koruyucu ve karaciğer enzim aktivitelerini düzenleyici etkisi (13) ile performansı olumlu etkileyecek potansiyele sahip olabileceği düşünülmektedir.

Zawadzki ve ark. (74) besi sığırlarının rasyonlarına propolis ekstraktı ilavesinin besi sonu canlı ağırlığı, ortalama günlük canlı ağırlık artışı, sıcak karkas ağırlığı ve yemden yararlanmanın monensin ve

kontrol grubuna göre önemli düzeyde olumlu etkilendiğini belirlemişlerdir (Tablo 4). Buzağular yaşamlarının ilk günlerinde daha retikolu-rumenleri tam olarak gelişmediği için monogastrik özellikte olup, rumen papilla ve epitellerinin gelişmesi için UYA'lerinden propiyonik ve bütirik asitlere gereksinim duyulmaktadır.

Aynı zamanda yenidoğanlarda rumendeki mikrobiyal aktivitenin arttırılması yemden daha iyi yararlanmayı ve rumen gelişimini arttıran etkenlerdendir (73). Bir haftalık buzağulara sütten kesilinceye kadar tablet olarak farklı dozda propolisten ekstrakte edilen flavonoidlerin verilmesinin büyümeyi arttırıcı (73; Şekil 1), besi kuzularının yemlerine propolis ekstraktı ilavesinin yemden yararlanma üzerine olumlu potansiyele sahip olduğu (21) belirlenmiştir. Kuzu besisi rasyonlarına yeşil (279.9 g flavonoid/kg), ve kahverengi (199 g flavonoid/kg) propolis ekstraktları (15 ml/gün) ile monensin (30 mg/gün) ilavesinin, performans üzerine olan etkisinin araştırıldığı çalışmada, yemden yararlanma oranının kahverengi propolis ve monensin ilave edilen kuzularda arttığı ve kahverengi propolisin monensine alternatif olduğu ifade edilmiştir (20). Yine %50'lik propolis ekstraktının oral yoldan verilen dişi buzağularda günlük canlı ağırlık artışının olumlu etkilenmesi, erkek buzağularda ise önemli bir etkisinin olmaması (67), propolisin cinsiyet farklılığından da etkilenebileceğini göstermektedir.

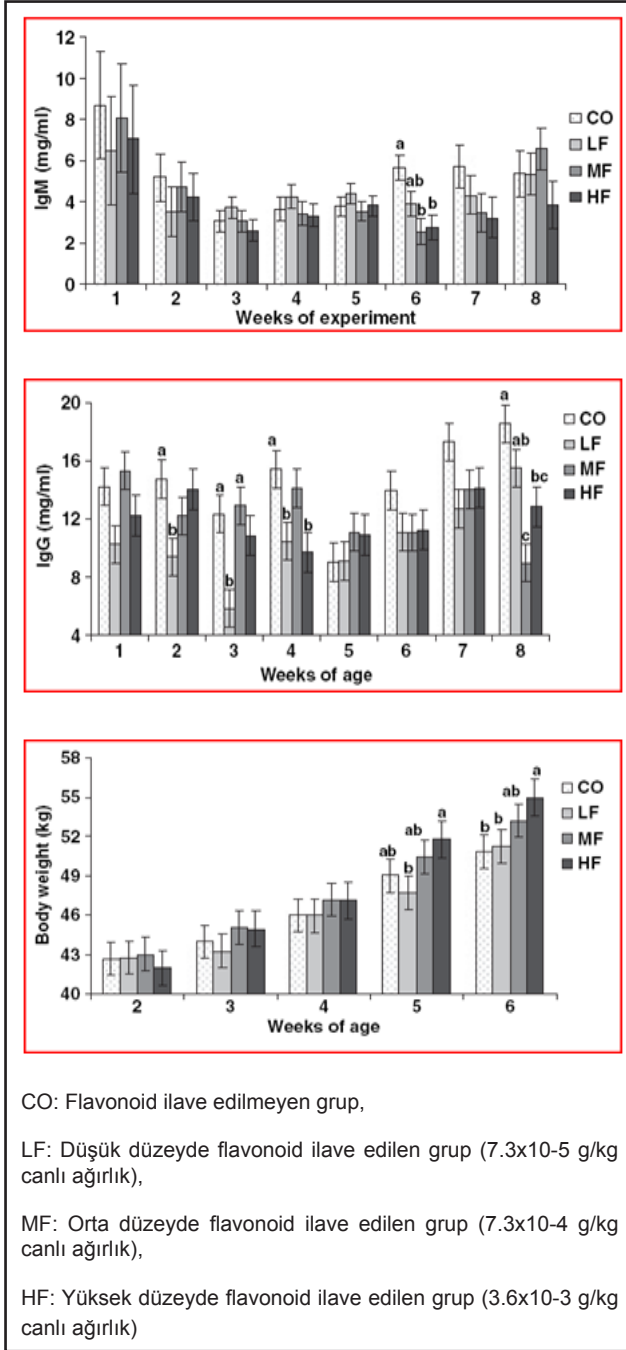
Çalışmalar genel olarak düşünüldüğünde, buzağulara sütten kesilinceye kadar ve besi sığırları ile besi kuzularına besi süresince propolis ekstraktı (flavonoid) verilmesinin verim performansı üzerine olumlu etki gösterdiği sonucu çıkarılmıştır.

**Tablo 4.** Monensine alternatif olarak boğaların (Nellore) rasyonlarına propolis ekstraktı ilave edilmesinin performans üzerine etkisi (74)

| Parametreler                              | Rasyon               |                       |                       | SH <sup>4</sup> | P               |
|---|----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------|-----------------|
|   | Kontrol <sup>1</sup> | Monensin <sup>2</sup> | Propolis <sup>3</sup> |                 |                 |
| Hayvan sayısı                             | 11                   | 11                    | 11                    |                 |                 |
| Çalışma başı canlı ağırlığı, kg           | 399                  | 401                   | 402                   | 2.33            | ÖD <sup>5</sup> |
| Çalışma sonu canlı ağırlığı, kg           | 472 <sup>b</sup>     | 480 <sup>b</sup>      | 501 <sup>a</sup>      | 6.76            | 0.03            |
| Ortalama günlük canlı ağırlık kazancı, kg | 0.87 <sup>b</sup>    | 0.94 <sup>b</sup>     | 1.17 <sup>a</sup>     | 0.06            | 0.02            |
| Kuru madde tüketim, kg/gün                | 9.51                 | 9.14                  | 9.41                  | 0.32            | ÖD              |
| Kuru madde tüketimi/ canlı ağırlık, %     | 1.99                 | 1.90                  | 1.90                  | 0.06            | ÖD              |
| Yemden yararlanma, kg/kg                  | 10.90 <sup>b</sup>   | 9.72 <sup>ab</sup>    | 8.04 <sup>a</sup>     | 0.87            | 0.01            |
| Sıcak karkas ağırlığı, kg                 | 259 <sup>b</sup>     | 259 <sup>b</sup>      | 275 <sup>a</sup>      | 3.94            | 0.01            |

1. Katkısız yemle beslenen grup, 2. Günlük 300 mg/hayvan sodyum monensin ilave edilen yemle beslenen grup, 3. Günlük 35 g/hayvan propolis ekstraktı ilave edilen yemle beslenen grup, 4. Ortalamanın standart hatası, 5. ÖD: İstatistiki yönden önemli değil Aynı satırda farklı harfle gösterilen veriler arasındaki fark önemlidir (P<0.05).

**Şekil 1.** Buzağı beslemede kullanılan farklı düzeylerdeki propolis ekstratlarının (flavonoid) serum IgM ve IgG düzeyleri ile canlı ağırlığa etkisi (73)



Ruminantlarda propolis alkol ekstraktının, KM tüketimi (süt sığı, besi sığı, besi kuzusu, süt keçisi) (21,36,54,62), canlı ağırlık, yemden yararlanma (süt sığı) (62), besin maddelerinin (KM, HP, HY:ham yağ, TDN:toplam sindirilebilir besin maddeleri, NDF:nötral deterjanda çözünmeyen lif) sindirilebilirliği (21,36,54,62) (in vivo; süt sığı, besi sığı, besi kuzusu) ve süt verimi (süt sığı) (62) ile ruminal pH, amonyak ve mikrobiyal protein sentezi (in vitro) (26) üzerine olumlu bir etkisinin olmadığını bildiren

çalışmalarda bulunmaktadır. Yine Sarker ve Yang (56) buzağılara sütten kesime (3 aylık yaş) kadar konsantre yemlerine propolis ilavesinin (%0.05) performans (canlı ağırlık, yem tüketimi, yemden yararlanma) ile bazı hematolojik parametreler ile immun sistem üzerine (IgA, IgG, IgM) olumlu bir etkisinin olmadığını belirlemişlerdir. Buzağılara propolisten ekstrakte edilen flavonoidlerinin verilmesinin serum IgG ve IgM düzeyi üzerine olumlu bir etkisi olmamakla birlikte yüksek dozlarının olumsuz etki gösterdiği saptanmıştır. Bu etki buzağının yaşıyla ilişkilendirilmiştir (73; Şekil 1) Çalışmalar neticesinde varılan sonuçlardaki farklılığın kullanılan propolisin elde edildiği bölgedeki bitki florasının ve bitki öz ve salgılarına arının enzim ve salgılarıyla son şeklini verdiği propolisteki aktif bileşiklerin tür ve düzeylerinden, çalışmaların in vivo ya da in vitro olmasından, in vivo çalışmalarda hayvanlara verildiği dozlarından, in vitro çalışmalarda ise kullanılan ekstrakt miktarlarından ve ayrıca rasyon içeriğine (sinerjik ya da antagonik etki yapabilecek bileşik ya da minerallerin mevcudiyeti) bağlı olarak etkinliğinin değişebileceği düşünülmektedir.

#### Ruminantlarda Süt ve Et Kalitesi Üzerine Etkisi

Çalışmalarda süt sığırlarına rumen kanülüyle farklı oranlarda propolis alkol ekstraktı verilmesinin (30.63, 71.88, 78.45 mg quercetin içeren) sütün antioksidan kapasitesini (serbest radikal absorbe etme kapasitesi) arttırdığı, sütün doymuş yağ asiti ve n6/n3 yağ asiti oranını azalttığı ve konjuge yağ asitleri ve tekli doymamış yağ asitlerinin düzeyini arttırdığı (Tablo 5) belirlenmiştir (1,11).

Valero ve ark. (68) besi sığırlarının konsantre yemlerine monensin ve propolis etanol ekstraktı ilavesinin etin (*M. Longissimus*) kimyasal kompozisyonu (HP, total lipit, total kolesterol) üzerine önemli bir etkisinin olmadığını ancak propolis etanol ekstraktının linoleik asit (C18:2 n-6) düzeyini arttırdığı böylece hayvansal ürünlerin kalitesinin artırılmasında önemli bir potansiyele sahip olduğu saptanmıştır

**Tablo 5.** Üç farklı propolis ekstraktı ilave edilen yemle (%62.27 kaba +%39.73 konsantre yem) beslenen süt sığırlarının sütünün yağ asiti profilindeki değişiklikler (1)

| Yağ asitleri (mg/g)         | Kontrol grubu       | Propolis 1           | Propolis 2          | Propolis 3          |
|-----------------------------|---------------------|----------------------|---------------------|---------------------|
| Konjuge yağ asiti           | 7.57 <sup>c</sup>   | 8.46 <sup>c</sup>    | 11.42 <sup>a</sup>  | 9.62 <sup>b</sup>   |
| Çoklu doymamış yağ asitleri | 50.51 <sup>a</sup>  | 40.12 <sup>c</sup>   | 44.76 <sup>b</sup>  | 53.52 <sup>a</sup>  |
| Doymuş yağ asitleri         | 435.69 <sup>a</sup> | 423.99 <sup>ab</sup> | 432.90 <sup>a</sup> | 403.01 <sup>b</sup> |
| Tekli doymamış yağ asitleri | 409.41 <sup>b</sup> | 409.77 <sup>b</sup>  | 403.35 <sup>b</sup> | 460.21 <sup>a</sup> |
| n-6 yağ asitleri            | 46.21 <sup>a</sup>  | 35.86 <sup>c</sup>   | 40.19 <sup>b</sup>  | 47.67 <sup>a</sup>  |
| n-3 yağ asitleri            | 4.30 <sup>b</sup>   | 4.25 <sup>b</sup>    | 4.57 <sup>b</sup>   | 5.85 <sup>a</sup>   |
| n-6/n-3 yağ asitleri oranı  | 10.76 <sup>a</sup>  | 8.45 <sup>b</sup>    | 8.83 <sup>b</sup>   | 8.17 <sup>b</sup>   |
| Toplam yağ asitleri         | 903.18              | 882.34               | 892.43              | 926.36              |

Propolis 1; 30.63 mg quercetin, Propolis 2; 71.88 mg quercetin, Propolis 3; 78.45 mg quercetin ihtiva edecek şekilde rasyonlara ilave edilmiştir. Aynı satırla farklı harfle gösterilen veriler arasındaki fark önemlidir (P<0.05).

### Ruminantlarda Diğer Kullanım Alanları ve Etkileri

Propolisin yukarıda belirtilen olumlu etkilerinin dışında veteriner hekimliğinde mastitis (aplikasyon olarak), jinekolojik hastalıklar (aplikasyon olarak), gastroenterik ve respiratorik hastalıklar (süte ilave edilerek) ile buzağı ishallerinin (yeme ilave edilerek) profilaktik tedavisinde, yaraların iyileştirilmesinin hızlandırılmasında, cerrahide lokal anestezide ve kuzu, buzağı ve domuzlarda gelişme geriliğini önlemede kullanılabileceği de ifade edilmektedir (4,12,65).

Sonuç olarak çalışmalarda;

- propolis ve fenolik asitlerin özellikle gram pozitif bakteriler (selüloolitik bakteriler; asetat ve metan üreten) üzerine olumsuz etkiye sahip olarak yemlerdeki lif sindirimini düşürdüğü,
- propolis ekstraktı ve fenolik asitlerin rumendeki siliyaların sayısını azaltıp, metan üretimini düşürücü etkileriyle çevre kirliliğini önlediği ve yem enerjisinden daha etkin yararlanma sağladığı,
- propolisin ruminal amonyak üretimini azaltarak azotun rumende daha etkin kullanıma yardımcı olacağı,
- buzağılara süttten kesilinceye kadar ve besi sığırları ile besi kuzularına besi süresince propolis ekstraktı (flavonoid) verilmesinin verim performansını üzerine pozitif etki gösterdiği,
- propolis ekstraktlarının süt sığırlarda sütün antioksidan kapasitesi, konjuge yağ asitleri ve tekli doymamış yağ asiti düzeyini arttırarak ve doymuş yağ asiti ve n6/n3 yağ asiti oranını azaltarak; besi sığırlarında ise linoleik asit (C18:2 n-6) düzeyini arttırarak hayvansal ürünlerin kalitesini ve raf ömrünü arttırıcı potansiyele sahip olduğu ortaya koyulmuştur.

### Kaynaklar

1. Aguilar SC, Cottica SM, Samensari RB, Paula EM, Franco SL, Moura LPP, Santos GT, Visentainer JV, Santos WBR, Yoshimura EH, Valero MV, Zeoula LM. Fat acids in milk of dairy cows fed diets containing propolis-based products. ADSA, ASAS Jam'2011. July 10-14, New Orleans, Louisiana/USA, 2011.
2. Akin DE. Forage cell wall degradation and p-coumaric, ferulic and sinapic acids. Agron J 1982; 74: 424-9.
3. Antunes RMP, Catao RMR, Cevallos BSO. Antimicrobial activity of propolis. Rev Bras Farmac 1996; 77: 15-18.
4. Bogdanov S. Propolis: composition, health, medicine: A review. Bee Product Sci. www.bee-hexagon.net; Erişim Tarihi: 15.01.2012.
5. Broudiscou LP, Papon Y, Broudiscou AF. Effects of dry extracts on fermentation and methanogenesis in continuous culture of rumen microbes. Anim Feed Sci Tech 2000; 87: 263-77.
6. Büyükberber M, Savaş MC, Bağcı C, Koruk M, Gülşen MT, Tutar E, Bilgiç T, Develi R, Küçük C. The beneficial effect of propolis on cerulein-induced experimental acute pancreatitis in rats. Turk J Gastroenterol 2009; 20(2): 122-8.
7. Chan EWC, Lim YY, Omar M. Antioxidant and antibacterial activity of leaves of Etlingera species (Zingiberaceae) in Peninsular Malaysia. Food Chem 2007; 104: 1586-93.
8. Cherney JH, Anliker KS, Albrecht KA, Wood KV. Soluble phenolic monomers in forage crops. J Agric Food Chem 1989; 37: 345-50.



9. Cihan YB, Deniz K. Sıçanlarda radyasyona bağlı oral mukozitte propolisin etkisi. *Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg* 2011; 21(1): 32-41.
10. Coleman GS. The distribution of carboxymethyl cellulase between fractions taken from the rumens of sheep containing no protozoa or one of five different protozoal populations. *J Agric Sci (Camb)* 1986;106: 121-7.
11. Cottica SM, Aguilar SC, Paula EM, Samensari RB, Moura LPP, Franco SL, Visentainer JV, Santos GT, Kazama R, Prado OPP, Maia FJ, Zeoula LM. Antioxidant activity in milk of dairy cows fed diets containing propolis-based products. *ADSA, ASAS Jam'2011*. July 10-14, New Orleans, Louisiana/ USA, 2011.
12. Dudko P, Kurpisz M. Eradication of subclinical mastitis. Part II. Efficacy of dry cow therapy and use of propolis. *Medycyna Wet* 1996; 52(7): 462-6.
13. El-Shobaki FA, Refaat OG, Saleh ZA, Abd-Elftah ABS, El-Hagar EF. The effect of consuming a cake containing propolis on gut micro flora and toxicity. *J American Sci* 2011; 7(7): 421-9.
14. Galal A, Abd El-Motaal AM, Ahmed AMH, Zaki TG. Productive performance and immune response of laying hens as affected by dietary propolis supplementation. *Int J Poult Sci* 2008; 7(3): 272-8.
15. Goodrich RD, Garrett JE, Gast DR, Kirick MA, Larson DA, Meiske JC. Influence of monensin on the performance of cattle. *J Anim Sci* 1984; 58: 1484-98.
16. Hartley RD, Jones EC. Phenolic components and degradability of cell walls of grass and legume speccies. *Phytochemistry* 1977; 16: 1531-9.
17. Hill TM, Bateman HG, Aldrich JM, Schlotterbeck RL. Oligosaccharides for dairy calves. *Pro Anim Sci* 2008; 24(5): 460-4.
18. Ikeno K, Ikeno T, Myazawa C. Effects of propolis on dental caries in rats. *Caries Res* 1991; 25: 347-51.
19. Irbis C, Ushida K. Detection of methanogens and proteobacteria from a single cell of rumen ciliate protozoa. *J Gen Appl Microbiol* 2004; 50: 203-12.
20. Itavo CCBF, Morais MG, Costa C, Itavo LCV, Franco GL, Silva JA, Reis FA. Addition of propolis or monensin in the diet: Behavior and productivity of lamb in feedlot. *Anim Feed Sci Tech* 2011; 65: 161-6.
21. Itavo CCBF, Morais MG, Ramos CL, Itavo LCV, Tomich TR, Silva JA. Green propolis extract as additive in the diet for lambs in feedlot. *R Bras Zootec* 2011; 40(9): 1991-6.
22. Jayanegara A, Makkar HPS, Becker K. Methane reduction properties of tanin containing plants, simple phenols and purified tannins in vitro rumen fermentation system. *FAO/IAEA International Symposium on Sustainable Improvement of Animal Production and Health*. June 8-11, 2009; Vienna-Austria.
23. Jayanegara A. Ruminant methane production on simple phenolic acids addition in in vitro gas production method. *Media Peternakan* 2009; 32(1): 53-62.
24. Johnson KA, Johnson DE. Methane emissions from cattle. *J Anim Sci* 1995; 73: 2483-92.
25. Jouany JP, Ushida K. The role of protozoa in feed digestion. *Asian-Aust J Anim Sci* 1999; 12: 113-28.
26. Junior DS, Queiroz AC, Lana RP, Pacheco CG, Eifert EC, Nunes PMM. Effect of the propolis on amino acids deamination and ruminal fermentation. *R Bras Zootec* 2004; 33(4): 1086-92 (Abstract).
27. Kamburoğlu K, Özen T. Analgesic effect of Anatolian propolis in mice. *Ağrı* 2011; 23(2): 47-50.
28. Kara K, Kocaoğlu Güçlü B, Baytok E, Gültekin M. Yumurtacı tavuk karma yemlerine ilave edilen üzüm posasının performans, yumurta kalitesi ve yumurta lipid peroksidasyonuna etkisi. VI. Ulusal Hayvan Besleme Kongresi. 29 Temmuz-02 Ağustos, 2011; Samsun-Türkiye.
29. Karakas Oguz F, Oguz MN, Buyukoglu T, Sahinduran S. Effects of varying levels of whole cottonseed on blood, milk and rumen parameters of dairy cows. *Asian Aust J Anim Sci* 2006; 19(6): 852-6.
30. Kılıç A, Uçar M, Baysallar M, Salih B, Sorkun K, Yıldırım ŞT, Tanyüksel M. Antimicrobial effects of propolis and honey samples collected from some regions of Turkey. *AJCI* 2007; 1(4): 213-8.
31. Kocaoğlu Güçlü B, Kara K. Ruminant beslemede alternatif yem katkı maddelerinin kullanımı. I. probiyotik, prebiyotik, enzim. *Erciyes Üni Vet Fak Derg* 2009; 6(1): 65-75.
32. Kocaoğlu Güçlü B, Kara K. Ruminant beslemede alternatif yem katkı maddelerinin kullanımı. II. organik asit, yağ asiti, adsorban. *Erciyes Üni Vet Fak Derg* 2010; 7(1): 43-52.

33. Kocaoğlu Güçlü B. Pamuk Tohumu Küspesinin Tannik Asit ve Lignosülfonat ile Muamelesinin Koçlarda Besin Madde Sindirilme Derecesi ve Rumende Parçalanma Özellikleri Üzerine Etkisi. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Doktora Programı. Ankara-Türkiye, 1999.
34. Kumova U, Korkmaz A, Avcı BC, Ceyran G. Önemli bir arı ürünü: propolis. *Uludağ Bee Journal* 2002; 2(2): 10-23.
35. Kutluca S, Genç F, Korkmaz A. Propolis. Samsun Valiliği, Tarım İl Müdürlüğü, Baskı: Çiftçi Eğitimi ve Yayım Şube Müdürlüğü, Samsun, ss:1-57, 2006.
36. Lana RP, Camardelli MML, Queiroz AC, Rodrigues MT, Eifert EC, Miranda EN, Almeida ICC. Soybean oil and propolis in the diets of dairy goats. *R Bras Zootec* 2005; 34(2): 650-8.
37. Lim TY, Lim YY, Yule CM. Evaluation of antioxidant, antibacterial and anti-tyrosinase activities of four Macaranga species. *Food Chem* 2009; 114: 594-9.
38. Lopez S, Valdes C, Newbold CJ, Wallace RJ. Influence of sodium fumarate addition on rumen fermentation in vitro. *Br J Nutr* 1999; 81: 59-64.
39. Lotfy M. Biological activity of bee propolis in health and disease. *Asian Pac J Cancer Pre* 2006; 7: 22-31.
40. Mattila P, Hellström J, Törrönen R. Phenolic acids in berries, fruits, and beverages. *J Agric Food Chem* 2006; 54(19): 7193-9.
41. Moss AR, Jouany JP, Newbold J. Methane production by ruminants: Its contribution to global warming. *Annal Zootec* 2000; 49: 231-53.
42. Newbold CJ, Lassalas B, Jouany JP. The importance of methanogenesis associated with ciliate protozoa in ruminal methane production in vitro. *Lett Appl Microbiol* 1995; 21: 230-4.
43. Newbold CJ, Wallace RJ, Watt ND, Richardson AJ. The effect of the novel ionophore tetronasin (ICI 139603) on ruminal microorganisms. *Appl Environ Microbiol* 1988; 54: 544-7.
44. Offer NW, Bell JF, Roberts DJ. The effect of feeding an essential oil feed additive on dairy cattle performance. *Proc Br Soc Anim Sci* 2005; 188 (Abstract).
45. Oğuz MN, Karakaş Oğuz F, Büyükoğlu T. Süt ineği rasyonlarına katılan aspir tanesinin süt verimi, bazı rumen ve kan parametreleri üzerine etkisi. III. Ulusal Hayvan Besleme Kongresi. 7-10 Eylül, 2005; Adana-Türkiye.
46. Oliveira JS, Queiroz AC, Lana RP, Mantovani HC, Generoso RAR. Effects of monensin and bee propolis in vitro fermentation of amino acids by mixed ruminal bacteria. *R Bras Zootec* 2006; 35(1): 275-81 (Abstract).
47. Önenç SS. Bazı Aromatik Bitkilerin in vitro Rumen Fermantasyonu Üzerine Etkileri. Doktora Tezi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Doktora Programı, İzmir-Türkiye, 2008.
48. Öztürk H, Emre B, Samanlıoğlu V, Piskin I. Effects of nisin and propolis on ruminal fermentation in vitro. *J Anim Vet Adv* 2010; 9(21): 2752-8.
49. Öztürk H, Pekcan M, Sireli M, Fidancı UR. Effects of propolis on in vitro rumen microbial fermentation. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 2010; 57: 217-21.
50. Park YK, Ikegaki M. Evaluation of ethanolic extracts of propolis from Brazil and Korea by physicochemical and biological methods. *Korean J Apicult* 1998; 13(1): 27-34.
51. Park YK, Ikegaki M. Preparation of water and ethanolic extracts of propolis and evaluation of the preparations. *Biosci Biotechnol Biochem* 1998; 62(11): 2230-2.
52. Pena RC. Propolis standardization: a chemical and biological review. *Cien Inv Agr* 2008; 35(1): 11-20.
53. Prado OPP, Zeoula LM, Moura LPP, Franco SL, Paiva SB, Arcuri PB. Isolation and expeditious morphological, biochemical and kinetic characterization of propolis-tolerant ruminal bacteria. *R Bras Zootec* 2010; 39(9): 2048-54.
54. Prado OPP, Zeoula LM, Moura LPP, Franco SL, Prado IN, Gomes HCC. Digestibility and ruminal parameters of diet based on forage with the addition of propolis and sodium monensin for steers. *R Bras Zootec* 2010; 39(6): 1336-45.
55. Rispoli TB, Rodrigues IL, Martins Neto RG, Kazama R, Prado OPP, Zeoula LM, Arcuri PB. Ruminal ciliate protozoa of cattle and buffalo fed on diet supplemented with monensin or extracts from propolis. *Pesqui Agropecu Bras* 2009; 44: 92-7.
56. Sarker MSK, Yang CJ. Propolis and illite as feed additives on performance and blood profiles of pre-weaning Hanwoo calves. *J Anim Vet Adv* 2010; 9(19): 2526-31.
57. Seven PT, Seven İ. The effect of dietary Turkish propolis as alternative to antibiotic on performance and digestibility in broilers exposed to heat stress. *J Appl Anim Res* 2008; 34: 193-6.

58. Seven PT. The effects of dietary Turkish propolis and vitamin C on performance, digestibility, egg production and egg quality in laying hens under different environmental temperatures. *Asian-Aust J Anim Sci* 2008; 21(8): 1164-70.
59. Shalmany SK, Shivazad M. The effect of diet propolis supplementation on Ross broiler chicks performance. *Int J Poult Sci* 2006; 5(1): 84-8.
60. Silici S, Kocaoğlu Güçlü B. Yumurtacı damızlık Japon bıldırcın (*Coturnix coturnix japonica*) rasyonlarına propolis ve kafeik asit katılmasının verim ve kuluçka performansını ile yumurta kalitesi ve bazı serum parametrelerine etkisi. *Erciyes Üni Sağlık Bil Derg* 2010; 19(2): 140-50.
61. Starzyk J, Scheller S, Szaflarski J, Moskwa M, Stojko A. Biological properties and clinical application of propolis: II. Studies on the antiprotozoan activity of ethanol extract of propolis. *Arzneim Forsch/Drug Res* 1977; 27(1): 1198-9.
62. Stelzer FSS, Lana RP, Campos JMS, Mancio AB, Pereira JC, Lima JG. Performance of milking cows fed concentrate at different levels associated or not with propolis. *R Bras Zootec* 2009; 38(7): 1381-9.
63. Takaisi-Kikuni NB, Schilder H. Electron microscopic and microcalorimetric investigations of the possible mechanism of the antibacterial action of a defined propolis provance. *Planta Med* 1994; 60: 222-7.
64. Tekeli A. Etlik Cıvciv Rasyonlarında Doğal Büyüme Uyarıcı Olarak Bitkisel Ekstraktların ve Propolisin Kullanım Olanakları. Doktora tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Doktora Programı. Adana-Türkiye, 2007.
65. Teterev I. Propolis in agriculture and veterinary medicine (in Russian). *Kirov* 1998; 87 (Abstract).
66. Theodorou MK, Kingston-Smith AH, Winters AL, Lee MRF, Minchin FR, Morris P, Macrae J. Polyphenols and their influence on gut function and health in ruminants: a review. *Environ Chem Lett* 2006; 4: 121-6.
67. Tolon B, Önenç A, Kaya A, Altan O. Effects of propolis on growth of calves. First German Bee Product and Apitherapy Congress, March 23-24, 2002; Passau-Germany.
68. Valero MV, Zawadzki F, Françoço MC, Farias MS, Rotta PP, Prado IN, Visatainer JV, Zeoula LM. Sodium monensin or propolis extract in the diet of crossmed(½ Red Angus vs. ½ Nellore) bulls finished in feedlot: chemical composition and fatty acid profile of the Longissimus muscle. *Semina: Cien Agrar* 2011; 32(4): 1617-26.
69. Varel VH, Jung HG. Influence of forage phenolics on ruminal fibrolytic bacteria and in vitro fiber degradation. *Appl Environ Microbiol* 1986; 52: 275-80.
70. Varga GA, Kolver ES. Microbial and animal limitations to fiber digestion and utilization. *J Nutr* 1997; 127: 819-23.
71. Vassya SB, Solange LDC, Marcuccic MC. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie* 2000; 31: 3-15.
72. Yaghoubi SMJ, Ghorbani GR, Rahmani HR, Nikkha A. Flavonoids manipulation of rumen fermentation: An alternative for monensin. *Agricultural Segment* 2010; 1(1): AGS/1508.
73. Yaghoubi SMJ, Ghorbani GR, Rahmani HR, Nikkha A. Growth, weaning performance, and blood indicators of humoral immunity in Holstein calves fed flavonoids. *J Anim Physiol Anim Nutr* 2008; 92: 456-62.
74. Zawadzki F, Prado IN, Marques JA, Zeoula LM, Rotta PP, Sestari BB, Valero MV, Rivaroli DC. Sodium monensin or propolis extract in the diets of feedlot-finished bulls: effects on animal performance and carcass characteristics. *J Anim Feed Sci* 2011; 20: 16-25.

**Yazışma Adresi:**

Yrd. Doç. Dr. Kanber KARA

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı

Melikgazi/KAYSERİ

**e-mail:** karakanber@hotmail.com





## Selenyum ve Ruminantlarda Kullanımı

Osman KÜÇÜK

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

**Özet:** Selenyum canlıların büyüme ve üreme faaliyetleri için gerekli olan esansiyel bir iz elementtir. Hayvanlarda Se fonksiyonu, glutasyon peroksidaz gibi selenoproteinler tarafından yerine getirilir. Selenyum eksikliğinde büyümede aksamalar görülürken, Se fazlalığı da ( $\geq 2$  ppm) zehirlenmelere neden olur. Farklı fizyolojik aşamalarda ruminant rasyonlarına ilave edilen selenyumun, immun sistemi güçlendirdiği, glutasyon peroksidaz enzim aktivitesini artırdığı ve dolayısıyla oksidatif strese karşı etkili olduğu bilinmektedir. Ancak, ruminant rasyonlarına ilave edilen Se, canlı ağırlık artışını, süt verimini ve yemden yararlanmayı artırmamaktadır. Organik Se kaynakları inorganik kaynaklardan daha etkilidir. Sağlıklı sığır yetiştiriciliği için rasyonlara Se takviyesi uygun bir stratejidir. Bu derlemede, ruminantlarda Se kullanımı üzerine durulacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Performans, ruminant, selenyum

### Selenium and its Supplementation in Ruminants

**Summary:** Selenium as an essential trace element is needed for growth and reproduction functions of living organisms. Selenium in animals functions through selenoproteins such as glutathione peroxidase. Selenium deficiency manifests itself as retardation of growth, whereas an overdose of Se ( $\geq 2$  ppm) may cause toxicities. Supplementing Se to the ration of ruminants in various physiological stages strengthens the immune system and increases the glutathione peroxidase enzyme activities, thus is effective in battling oxidative stress. However, adding Se to the diet of ruminants results in no improvement in weight gain, milk production or feed efficiency. Organic sources of Se are more effective than those of inorganic sources of Se. Selenium supplementation to the diet of cattle is an appropriate strategy for a healthier cattle husbandry. This review focuses on selenium supplementation in ruminants.

**Key Words:** Performance, ruminant, selenium

### Giriş

Selenyum (Se) memeliler için esansiyel bir eser elementtir. Selenyum, doğada elementel Se (Se<sup>0</sup>), selenid (Se<sup>-2</sup>), selenit (Se<sup>+4</sup>), ve selenat (Se<sup>+6</sup>) olmak üzere 4 formda bulunur (10). Selenyum endüstride elektronik, fotoğraf malzemeleri, cam, seramik ve boya üretimde ve ayrıca insektisit, fungusit ve kepek önleyici olarak kullanılmaktadır. Selenyum doğada kurşun, çinko, fosfat ve uranyum gibi maddelerle birlikte bulunur. En önemli selenyum kaynağını selenifer bitkiler (astragalus, stanleya, aster gibi) oluşturur. En önemli doğal Se kaynakları, deniz ürünleri, sakatat (böbrek, karaciğer), kırmızı et, beyaz et ve Se bakımından yeterli-zengin topraklarda yetişen tahıl ve diğer bitkilerdir. Kuruyemişler, soğan, sarımsak, mantar ve yumurta da zengin Se kaynaklarıdır. Buna karşın meyve, sebze, süt ve süt ürünleri Se bakımından fakir gıdalardır (27, 37).

Selenyum bakımından zengin/fakir topraklarda yetişen bitkileri yem olarak tüketen hayvanlarda, doku ve kan Se düzeyi etkilenmektedir. Pirinççi ve ark. (40) yaptıkları bir taramada; selenyum düzeylerinin karma yemlerde 0.111-2.596 ppm ve yem bitkilerinde 0.038-1.558 ppm olduğunu belirlemişlerdir. Öncüer

ve ark. (38) yaptıkları taramalarda, Urfa ve Samsun bölgelerindeki koyun ve sığırlarda bütün mevsimlerde kan Se düzeylerinin normal düzeylerde (0.10 mg/L) olduğunu bulmuşlardır. Aynı çalışmada (38), Sivas ve Kırşehir bölgelerinde bulunan hayvanlardan alınan kan örneklerinde sadece kış aylarında Se düzeyinin alt sınır seviyesinde (0.051-0.075 mg/L) olduğu ancak diğer mevsimlerde fizyolojik seviyelerde olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada (38), Bursa bölgesindeki sığırlardan yaz ve sonbahar aylarında alınan kan örneklerinde Se düzeyinin eksik olduğu (0.033 mg/L) bulunmuştur. Ancak Kurt ve ark. (23), Diyarbakır il ve ilçelerindeki meralarda otlayan koyunların serum ve yün Se düzeylerini incelemiş ve merkez ilçedeki koyunlar hariç diğer ilçelerde bulunan koyunların serum Se düzeylerinin standart değerlerin altında (0.046-0.065 mg/L) olduğunu tespit etmişlerdir.

### Selenyumun fonksiyonları

Selenyum canlıların büyüme ve üreme faaliyetleri için gerekli olan esansiyel bir iz elementtir. Selenyumun biyolojik fonksiyonu, dokularda bulunan selenoproteinler sayesinde gerçekleşmektedir. Bilinen 30 ila 50 arasındaki selenoproteinden en az 12 tanesi immun fonksiyonda, kanser mekanizmasında ve viral patogenesisde rol almaktadır (20). Hayvanlarda Se fonksiyonu en az 5 adet selenoprotein tarafından

yürütülür. Selenoprotein ailesinde başta glutasyon peroksidaz (GSHPx) olmak üzere, iyodotronin deiodinaz ve tioredoksin reduktaz bulunur. Bahsi geçen bu selenoproteinler redoks enzimleri olup, antioksidan sistem ve tiroid hormon fonksiyonunda görev alırlar (4, 14). Ekstraselüler bir protein olan selenoprotein P ise oksidatif yaralanma ve Se taşınmasında görev alır. Glutasyon peroksidazın 3 formu (sitozol, plazma ve fosfolipid hidroperoksit) ve selenoprotein P, antioksidan sistemlerin en önemli unsurlarıdır (1, 4, 14). Antioksidan özelliğe sahip, kalp ve iskelet kaslarında bulunan selenoprotein W eksikliğinde, Beyaz Kas hastalığı görülmektedir (1, 24, 14). Antioksidatif sistemde yer almasından dolayı Se yetersizliği kardiyovasküler hastalıklar (20), kısırılık (3), diabetes (36) gibi birçok hastalığın etiolojisinde önemli bir role sahiptir. AIDS hastalarında Se yetersizliğinin tespit edilmesi bu hastalığın tedavisi için alternatifler sunmuş ancak hastalığın mekanizmasında zayıflayan oksidatif dengenin bu duruma neden olduğu fikri ağırlık kazanmıştır (54). Selenyumun normal kemik doku gelişimini hızlandırdığı gibi kemik dokuda kanser gelişimini de önlediği rapor edilmiştir (49).

### Selenyum yetersizliği ve toksikasyonu

Çiftlik hayvanlarında Se'un eksikliği problemlere sebebiyet verdiği gibi fazlalığı da zehirlenmelere neden olur. Selenyum yetersizliğinde, büyümede gerileme, verim düşüklüğü ve ishal görülür (31). Selenyum yetersizliğinin ayrıca kemik metabolizmasını bozduğu ve osteopeniye neden olduğu da bildirilmiştir (16, 29). Selenyum yetersizliğinde, genç ruminantlarda (0-1 yaş) görülen ve çizgili kaslarda doku yıkımı ile karakterize olan Beyaz Kas hastalığı şekillenir. Bu hastalığın sığırlarda en önemli belirtileri bacaklarda güçsüzlük, yürümede tutukluk, kaslarda beyazlaşma ve nekroz, hastalığın kalp kaslarına yerleşmesi durumunda da kalp bozukluğu ve ani ölümlerdir (34, 31).

Bütün hayvan türleri için tolere edilebilir (zehirlenme belirtilerinin görülmediği) Se düzeyi NRC (30) tarafından 2 ppm olarak belirlenmiştir. Ancak uzun süreli yüksek Se (sodyum selenit) tüketimine bağlı olarak koyunlarda tolerans düzeyinin belirtilenden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (11, 12, 41). Kronik Se zehirlenmesi, sığırların rasyonla haftalar ya da aylarca 5-40 mg Se/kg rasyon alması ile gerçekleşir (31). Akut zehirlenmeler ise, sığırların 10-20 mg Se/kg canlı ağırlık (CA) dozunda tüketimiyle gerçekleşir. Selenyumla zehirlenmelerde en önemli yol, selenyumla Astragalus (geven otu) gibi bitkilerde birikmesi ve bu tür bitkilerin hayvanlar tarafından tüketilmesidir. Selenyum toksikasyonlarında hayvanlarda görülen en belirgin semptomlar, topallık, tırnak düşmesi, kılların dökülmesi ve zayıflamadır (31).

### Ruminantlarda selenyum ihtiyaçları

Süt ineklerinin Se ihtiyacı 0,3 ppm olarak belirlenmiştir (32, 34). Buzağı beslemede kullanılan süt ikame ve buzağı başlangıç yemlerinde makro element düzeyleri normal inek sütüne çok yakın iken, Se gibi bazı eser elementler yetersizdir. Selenyum yetersizliği ile karşılaşmamak için, buzağuların alması gereken Se miktarı, içtikleri normal inek sütünde bulunan miktardan (0.02-0.15 ppm) çok daha fazla (0,30 ppm) olmak durumundadır (34). Besi tipi sığırların Se ihtiyacı, 0,1 ppm olarak bildirilirken (33), koyunlarda büyüme için gerekli Se düzeyi 0,5 ppm olarak belirtilmiştir (35).

### Ruminantlarda yapılan selenyum çalışmaları

Buzağular dahil, ruminant rasyonlarına ilave edilen Se'un performans, immunité ve diğer kan parametrelerine etkisi literatürde araştırılmıştır. Ruminantlarda (buzağı, süt sığırı, besi sığırı), farklı üretim tip ve fizyolojik durumları temsil ettiği için her bir hayvan grubunun ayrı olarak değerlendirilmesi gerekir.

**Buzağı: doğum-sütten kesim dönemi:** Kamada ve ark. (19), doğumu izleyen 2., 12., 24. ve 36. saatlerde buzağuların içtiği kolostruma ilave ettikleri Se'un (1-5 ppm) plazma IgG ve Se konsantrasyonunu artırmak suretiyle gerek immun sistemi güçlendirdiği gerekse sağlıklı bir büyümeyi sağladığını bildirmişlerdir. Fokking ve ark. (15), 1 haftalık yaşta erkek Holstein buzağuların tükettiği süt ikame veya buzağı başlangıç yemine 42 gün süreyle ilave ettikleri organik (maya Se) ve inorganik Se (sodyum selenit) takviyesinin, canlı ağırlık artışını, yem tüketimini, yemden yararlanmayı ve hayvan sağlığını ancak daha önemlisi kan Se konsantrasyonunu etkilemediğini belirlemişlerdir. Benzer bir çalışmada Weiss ve ark. (51), yeni doğan buzağulara 14. ve 28. günlük yaşlarda 0.078 gram Se/kg vücut ağırlığı ve 5,4 IU vitamin E/kg vücut ağırlığı olmak üzere 2 enjeksiyon yapmış ve bu uygulamaların canlı ağırlık artışına etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Herdt ve ark. (18), sütten kesilmiş buzağularda serum Se konsantrasyonunun 25 ng/mL den az olmasının Se yetersizliğine işaret ettiğini, 55-90 ng/mL düzeylerinde olmasının ise fizyolojik düzey olarak kabul edildiğini ifade etmişlerdir.

**Buzağı: sütten kesim sonrası dönem:** Swecker ve ark. (47), erkek danalara sütten kesildiği ilk gün ve 28 gün sonra tekrar edilmek suretiyle Se enjeksiyonu (0.05 mg/kg vücut ağırlığı) uygulamış ve ilk enjeksiyondan 42 gün sonra ölçülen günlük canlı ağırlıkta bir değişim olmadığını ve bu uygulama sonucu serum Se konsantrasyonunda geçici bir artışa ( $\leq$  28 gün) neden olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar (47), Se yetersizliği durumunda enjeksiyon uygulamasının yetersiz kalacağı ve bu yüzden yeme takviye

yapmak sureti ile Se ilavesinin gerekli olduğunu ifade etmişlerdir. Bu fikri destekler nitelikteki bir çalışmada, Wichtel ve ark. (52), 5 aylık süt danalarının rumeni içine ticari Se bolusları uygulamış (%10 Se içeren Permasel, 3 mg elemental Se/gün salınımlı) ve canlı ağırlık artışının bu uygulamanın yapılmadığı gruba göre daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir. Benzer şekilde Castellan ve ark. (6), yeni doğan buzağılara ilk gün ya da 70., 114. ve 149. günlerde kg canlı ağırlık başına 0,05 mg Se enjeksiyonu uygulamış ve günlük canlı ağırlık artışının ilk Se enjeksiyonu yapılan buzağılarda Se enjeksiyonu yapılmayan buzağılara oranla daha yüksek olduğunu bulmuşlardır.

**Sığır: besi performansı:** Ülkemizde sığırlar üzerinde yapılan Se çalışmaları oldukça az sayıdadır. Yıldız ve ark. (53) yaptıkları bir çalışmada, erkek Montefon melezi besi sığırı (20-22 aylık ve ortalama 235 kg CA'a sahip) yemlerine 300 ppm organik Se (Sel-Plex) katmışlar ve bu uygulamanın besi performansında farklılığa yol açmadığını tespit etmişlerdir. Ancak bu araştırmacılar (53) organik Se saplementinin besi maliyetini düşürebileceği konusunda görüş bildirmişlerdir.

Swecker ve ark. (48), Se bakımından yetersiz (20 mg Se/kg mineral karışımı) rasyonla 70 gün süreyle beslenen erkek buzağılara intramuscular 0,1 mg Se/kg vücut ağırlığı enjeksiyonu uygulamış ve bu uygulamaya alternatif olarak aynı hayvanlara 80, 120, 160 ve 200 mg Se/kg mineral karışımı içeren rasyon yedirmişlerdir. Bu çalışmada (48), sadece yüksek oranda Se içeren mineral karışımının katıldığı rasyonla beslenen buzağılarda serum Se konsantrasyonunun yüksek tespit edildiği ancak canlı ağırlık artışında Se takviyesinin etkili olmadığı gözlenmiştir. Liao ve ark. (25), Angus ırkı besi sığırlarında (393±9 kg CA) 105 gün süreyle yaptıkları bir çalışmada, rasyona ilave ettikleri 3 mg Se/gün/baş Se-mayanın (Sel-Plex) aynı miktarda rasyona ilave edilen sodyum selenite oranla dokularda daha çok biriktiğini belirlemişlerdir.

**Süt sığırı: gebelik:** Gunter ve ark. (17), meradaki gebe ineklere 26 ppm sodyum selenit ya da maya-Se takviyesi yaptıkları bir çalışmada, gebe ineklerde vücut ağırlığı, yem tüketimi ve doğum sonrası gebe kalma oranının değişmediğini tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada (17), buzağuların doğum ağırlığının, canlı ağırlık artışlarının ve mortalitelerinin Se uygulamasından etkilenmediği, ancak Se takviyesinin serum Se düzeyi ve glutasyon peroksidaz aktivitesini artırdığını tespit edilmiştir. Pehrson ve ark. (39), gebe inek rasyonlarına maya kaynaklı Se ve sodyum selenit ilave ederek bu ineklerden doğan buzağuların kan ve doku Se durumunu test etmişlerdir. Bu araştırmacılar (39), ineklere yapılan organik Se takviyesinin inorganik Se takviyesine oranla buzağı plazma Se düzeyini daha çok artırdığını ve bu durumun Se yetersizliğine

bağlı kas dejenerasyonunun önlenmesinde önemli bir avantaj sağlayacağını ifade etmişlerdir. Benzer şekilde Awadeh ve ark. (2), gebe ineklere doğumdan 90 gün önce başlamak üzere doğuma kadar 20, 60 ve 120 ppm sodyum selenit veya sadece 60 ppm maya-Se içeren rasyon yedirdikleri çalışmada, gerek ineklerin gerekse bu ineklerden doğan buzağuların canlı ağırlığında bir değişim olmadığını tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada (2), yüksek doz Se ile takviye edilen rasyonlarla beslenen inek ve buzağı plazmasında ve kolostrumunda; T3, IgG ve Se konsantrasyonlarının yüksek düzeyde olduğu belirlenmiştir. Yazarlar (2) çalışma sonucunda, Se takviyesinin 60 ve 120 ppm düzeyinde yapılması gerektiğini ifade etmişlerdir.

Süt Se konsantrasyonu, hayvanların Se durumu-düzeyi hakkında önemli bilgiler vermektedir. Ceballos ve ark. (7) yaptıkları meta-analiz sonucunda ineklere yapılan oral Se saplementasyonunun sütteki Se düzeyini ortalama olarak 0.16 µmol/L artırdığını belirlemişlerdir. Aynı yazarlar (7), Amerika'da beslenen ineklerin rasyonlarına 75 gün süreyle ilave edilen maya kaynaklı Se'un inorganik kaynaklı Se kaynaklarına oranla sütte daha fazla miktarda Se konsantrasyonuna (yaklaşık 0.37 µmol/L süt) neden olduğunu tespit etmişlerdir. Bu konu, tüketicilerin sütle birlikte ve günlük olarak toplam alacakları Se miktarı için önemlidir.

Stockdale ve Gill (46), laktasyondaki inek rasyonlarına 2-6 hafta süreyle ilave ettikleri maya kaynaklı Se'nin (20, 30, 40, ve 60 mg Se/gün/baş) sütte Se düzeyini doza bağlı olarak yükselttiğini ancak Se uygulaması bittikten sonraki 21 haftalık ölçümlerde süt Se düzeyinin yavaşça azaldığını gözlemişlerdir.

**Süt sığırı: kuru dönem – laktasyon:** Weiss ve Hogan (50), kuru dönemde başlayan ve erken laktasyon döneminde devam eden 0.3 ppm organik (maya kaynaklı) ve inorganik (sodyum selenat) Se takviyesinin, süt ineklerinde süt verimi, süt kompozisyonu ve kuru madde tüketimini değiştirmediğini bulmuşlardır. Aynı çalışmada (50), organik Se takviyesi yapılan ineklerde ve bu ineklerden doğan buzağuların serum Se düzeyinde, inorganik Se takviyesine göre 1.4 kat, kolostrum ve sütteki Se düzeyi ise 1.5-2 kat daha fazla bulunmuştur. Cerri ve ark. (8), laktasyondan 25 gün önce başlamak üzere laktasyonun 70. gününe kadar Holstein ırkı sığırların rasyonlarına sodyum selenit ya da Se-maya ilave etmişler (0,3 mg/kg kuru madde rasyon). Ancak deneme grupları arasında ketozis, mastitis ve metritis görülme sıklığında bir fark bulunmadığını bildirmişlerdir. Aynı çalışmada (8), hayvan grupları arasında plazma Se ve progesteron konsantrasyonları, glutasyon peroksidaz enzim aktiviteleri, fertilizasyon oranları, blastomer sayıları ve embriyo kalitesi bakımından benzer bulunmuştur. Salman ve ark. (42), Se'un immun cevabı güçlendirmek suretiyle sığırlarda özellikle laktasyon dönemlerinde

meme sağlığını düzenleyerek mastitisi kontrol altına alacağını bildirmişlerdir. Bu amaçla Se-maya formunun klasik dozlarda tavsiye edilenin üzerinde kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Ancak, Salman ve arkadaşları yaptıkları başka bir araştırmada (43), laktasyondaki süt sığırları rasyonlarına ilave edilen selenyumun immun parametrelerine etki etmediğini tespit etmişlerdir.

Koyun: Kumar ve ark. (21), 90 gün süreyle kuzu rasyonlarına 0,15 ppm inorganik (sodyum selenit) ya da organik Se (Jevsel-101) kaynağı ilave etmiş ve organik Se kaynağının inorganik Se kaynağına göre daha fazla günlük canlı ağırlık artışı sağladığını tespit etmiştir (kontrol:89 gr, inorganik Se:98 gr, organik Se:110 gr). Aynı çalışmada (21) kuzulardaki humoral immun cevabın ve oksidatif durumun sırasıyla en yüksek olarak organik Se ve daha az olmak üzere inorganik Se ile beslenen kuzularda olduğu gözlenmiştir. Chadio ve ark. (9), 20 günlük yaşta 20 haftalık yaşa kadar kuzuların rasyonlarına Se takviyesi (0,2 ppm sodyum selenit) yapmış ve bu uygulamanın plazma Se konsantrasyonunu artırdığını, ancak T3 ve T4 konsantrasyonlarını değiştirmedeğini tespit etmişlerdir. Kumar ve ark. (22), 8-9 aylık koyun rasyonlarına 90 gün süreyle farklı miktarlarda (0, 0,15 ve 0,30 ppm) sodyum selenit ilave etmiş ve bu uygulamanın gerek yem tüketimine gerekse sindirime etki etmediğini ancak serum Se düzeyinin, immun cevabın ve antioksidan durumunun yükseldiğini bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar (22), 0,15 ve 0,30 ppm Se saplementi yapılan koyun rasyonlarında aynı miktar canlı ağırlık artışı için gerekli yem miktarını (yemden yararlanma) Se katılmayan rasyona oranla sırasıyla %11 ve %16 oranında daha az bulmuşlardır. Domínguez-Vara ve ark. (13) besi koyun rasyonlarına 0 ya da 0,3 mg/gün maya-Se takviye etmişler ve günlük canlı ağırlık artışı, yem tüketimi ve yemden yararlanmanın değişmediğini bulmuşlardır. Aynı araştırmada (13), maya-Se takviyesinin ölçülen hiçbir karkas parametresini (sıcak soğuk karkas ağırlıkları, karkas protein, yağ ve enerjisi) değiştirmedeğini gözlenmiştir.

Carlson ve ark. (5) gebe koyunlara ihtiyaç düzeyinde (%100) ve ihtiyaç altında (%60) yemleme uygulamış ve her iki beslenme rejimi rasyonlarına normal (3 µg/kg CA) ve yüksek (70 µg/kg CA) düzeyde Se-maya katmışlardır. Yüksek dozda Se uygulamasının, karaciğer kütlelerinde ve perirenal yağ kütlelerinde yükselmeye neden olurken, jujenum DNA konsantrasyonunu ve hücre sayısını azaltmıştır. Shi ve ark. (45), %70 kaba yem içeren koyun rasyonlarına 0,3, 3 ve 6 gr nano-Se/kg KM Se ilave etmiş ve bu uygulamanın rumen pH'sı ve amonyak N düzeyini düşürdüğünü, total uçucu yağ asidi düzeyini doza bağlı olarak yükselttiğini gözlemlemişlerdir. Araştırmacılar (45), rasyonlara 3 gr/kg KM nano-

Se katılmasının rumen mikroorganizmalarının sindirim aktivitesini artırmak suretiyle genel manada rumen fermantasyonu ve yem kullanımını artırdığını bildirmişlerdir. Nano-Se partikülleri, yüzey alanını genişleterek enzim aktivitesini artırmakta ve adsorpsiyon kabiliyeti artmaktadır.

Keçi: Misurova ve ark. (28), doğumun hemen sonrasında hem doğum yapan keçilerden hem de doğan yavruardan (kolostrum almadan) aldıkları kan örneklerinde Se konsantrasyonunun, keçilerde ortalama 149 µg/L yavruarda ise ortalama 87 µg/L olduğunu ölçmüşlerdir. Aynı araştırmada (28), kan Se konsantrasyonu ile glutasyon peroksidaz enzim aktivitesinin yakın ilişkisi ortaya konmuştur. Bu çalışmada (28), keçi yavrularının kan Se konsantrasyonlarının fizyolojik olarak annelerinin kan Se konsantrasyonlarına oranla yaklaşık %40 daha düşük olmasının, keçi yavrularına Se yetersizliğine karşı koruyucu amaçla Se takviyesine ihtiyaç duyulduğu ifade edilmiştir.

Deve: Seboussi ve ark. (44), gebe deve rasyonlarına kuru dönemden başlamak suretiyle laktasyonun ilk 3 ayına kadar sodyum selenit (2 mg/gün) takviyesi yapmış ve gerek develerde gerek bu develerden doğan yavruarda serum Se konsantrasyonunun, glutasyon peroksidaz aktivitesinin yüksek olduğu ve ayrıca idrar, dışkı ve sütteki Se konsantrasyonunun yükseldiğini tespit etmişlerdir.

Geyik: Mackintosh ve ark. (26), merada otlayan geyik yavrularına (3-15 aylık yaşta) yaptıkları oral veya tek enjeksiyondan oluşan baryum selenat (50 mg Se) uygulamasının, canlı ağırlık artışını etkilemediğini ancak glutasyon peroksidaz aktivitesi ve serum Se konsantrasyonunu artırdığını bildirmişlerdir.

## Sonuç

Her ne kadar, canlı performans ve verim düzeylerini etkilemese de, ruminant rasyonlarında selenyum kullanımı sağlıklı sığır yetiştirme sisteminde gereklidir. Bu manada, NRC tarafından tavsiye edilen Se dozları yeniden gözden geçirilebilir.

## Kaynaklar

1. Arthur JR. Selenium: metabolism and function. Proc Nutr Soc Aust 1992; 17: 91-98.
2. Awadeh FT, Kincaid RL, Johnson KA. Effect of level and source of dietary selenium on concentrations of thyroid hormones and immunoglobulins in beef cows and calves. J Anim Sci 1998; 76: 1204-15.
3. Brown DG, Burk RF. Selenium retention in tissues and sperm of rats fed a Torula yeast diet. J Nutr 1973; 103: 102-8.



4. Burk RF, Hill KE, Motley AK. Selenoprotein metabolism and function: evidence for more than one function for selenoprotein P. *J Nutr* 2003; 133: 1517-20.
5. Carlson DB, Reed JJ, Borowicz PP, Taylor JB, Reynolds LP, Neville TL, Redmer DA, Vonnahme KA, Caton JS. Effects of dietary selenium supply and timing of nutrient restriction during gestation on maternal growth and body composition of pregnant adolescent ewes. *J Anim Sci* 2009; 87:669-80.
6. Castellán DM, Maas JP, Gardner IA, Oltjen JW, Sween ML. Growth of suckling beef calves in response to parenteral administration of selenium and the effect of dietary protein provided to their dams. *J Am Vet Med Assoc* 1999; 214: 816-21.
7. Ceballos A, Sanchez J, Stryhn H, Montgomery JB, Barkema HW, Wichtel JJ. Meta-analysis of the effect of oral selenium supplementation on milk selenium concentration in cattle. *J Dairy Sci* 2009; 92: 324-42.
8. Cerri RL, Rutigliano HM, Lima FS, Araújo DB, Santos JE. Effect of source of supplemental selenium on uterine health and embryo quality in high-producing dairy cows. *Theriogenology* 2009; 71:1127-37.
9. Chadio SE, Kotsampasi BM, Menegatos JG, Zervas GP, Kalogiannis DG. Effect of selenium supplementation on thyroid hormone levels and selenoenzyme activities in growing lambs. *Biol Trace Elem Res* 2006; 109: 145-54.
10. Combs GF ve Combs S. *The Role of Selenium in Nutrition*. Academic Press Inc. London 1986.
11. Cristaldi LA, McDowell LR, Buergelt CD, Davis PA, Wilkinson NS, Martin FG. Tolerance of inorganic selenium in wether sheep. *Small Rum Res* 2005; 56: 205-13.
12. Davis PA, McDowell LR, Wilkinson NS, Buergelt CD, Van Alstyne R, Weldon RN, Marshall T. Tolerance of organic selenium by range-type ewes during gestation and lactation. *J Anim Sci* 2006; 84: 660-8.
13. Domínguez-Vara, I.A. S.S. Gonzalez-Munoz, J.M. Pinos-Rodríguez, J.L. Borquez-Gastelum, R. Barcena-Gama, G. Mendoza-Martínez, L.E. Zapata, L.L. Landois-Palencia. Effects of feeding selenium-yeast and chromium-yeast to finishing lambs on growth, carcass characteristics, and blood hormones and metabolites. *Anim Feed Sci Tech* 2009; 152: 42-9.
14. Fairweather-Tait SJ, Collings R, Hurst R. Selenium bioavailability: current knowledge and future research requirements. *Am J Clin Nutr* 2010; 91:1484-91.
15. Fokkink WB, Hill TM, Bateman II HG, Aldrich JM and Schlotterbeck RL. Selenium yeast for dairy calf feeds. *Anim Feed Sci Tech* 2009; 153:228-35.
16. Gronbaek H, Frystyk J, Orskov H, Flyvbjerg A. Effect of sodium selenite on growth, insulin-like growth factor-binding proteins and insulin-like growth factor-I in rats. *J Endoc* 1995; 145:105-112.
17. Gunter SA, Beck PA, Phillips JK. Effects of supplementary selenium source on the performance and blood measurements in beef cows and their calves. *J Anim Sci* 2003; 81:856-64.
18. Herdt TH, Rumble W, Braselton WE. The use of blood analyses to evaluate mineral status in livestock. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2000;16:423-44.
19. Kamada H, Nonaka I, Ueda Y, Murai M. Selenium addition to colostrum increases immunoglobulin G absorption by newborn calves. *J Dairy Sci* 2007; 90:5665-70.
20. Kohrle J, Brigelius-Flohe R, Bock A, Gartner R, Meyer O, Flohe L. Selenium in biology: facts and medical perspectives. *Biol Chem* 2000; 381:849-64.
21. Kumar N, Garg AK, Dass RS, Chaturvedi VK, Mudgal V and Varshney VP. Selenium supplementation influences growth performance, antioxidant status and immune response in lambs. *Anim Feed Sci Tech* 2009; 153:77-87.
22. Kumar N, Garg AK, Mudgal V, Dass RS, Chaturvedi VK, Varshney VP. Effect of different levels of selenium supplementation on growth rate, nutrient utilization, blood metabolic profile, and immune response in lambs. *Biol Trace Elem Res* 2008; 126 Suppl 1:S44-S56.
23. Kurt D, Denli O, Kanay Z, Güzel C, Ceylan K. Diyarbakır bölgesi Akkaraman koyunlarda kan serumunda Cu Zn Se ve yünde Cu Zn düzeylerinin araştırılması. *Türk J Vet Anim Sci* 2001; 25:431-436.
24. Levander OA. Scientific rationale for recommended daily allowance for selenium. *J Am Diet Assoc* 1991; 91:1572-76.
25. Liao SF, Brown KR, Stromberg AJ, Burris WR, Boling JA, Matthews JC. Dietary Supplementation of Selenium in Inorganic and Organic Forms Differentially and Commonly Alters Blood and Liver Selenium Concentrations and Liver Gene Expression Profiles of Growing Beef Heifers. *Biol Trace Elem Res* 2011; 140:151-69.

26. Mackintosh CG, Gill J, Turner K. Selenium supplementation of young red deer (*Cervus elaphus*). *N Z Vet J* 1989; 37:143-5.
27. Matek M, Blanusa M, Grgic J. Determination of the daily dietary selenium intake in Croatia. *Euro Food Res Tech* 2000; 210:155-60.
28. Misurova L, Pavlata L, Pechova A, Dvorak R. Selenium metabolism in goats – maternal transfer of selenium to newborn kids. *Veterinarni Med* 2009; 54:125-30.
29. Moreno-Reyes R, Egrise D, Neve J, Pasteels JL, Schoutens A. Selenium deficiency-induced growth retardation is associated with an impaired bone metabolism and osteopenia. *J Bone Miner Res* 2001; 16: 1556-63.
30. NRC. Mineral Tolerance of Domestic Animals. National Academy Science. Washington, DC, 1980.
31. NRC. Selenium in Nutrition. 2nd rev. edition. National Academy Science. Washington, DC, 1983.
32. NRC. National Research Council. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 6th revised ed. National Academy Science Washington, DC, 1989.
33. NRC. National Research Council. Nutrient Requirements of Beef Cattle. National Academy Science, Washington, DC, 1996.
34. NRC. National Research Council. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th revised ed. National Academy Science, Washington, DC, 2001.
35. NRC. National Research Council. Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Gervits, and New World Camalids. National Academy Science, Washington, DC, 2007.
36. Oliveira HR, Curi R, Carpinelli AR. Glucose induces an acute increase of superoxide dismutase activity in incubated rat pancreatic islets. *Am J Physiol* 1999; 276: 507-10.
37. Oster O, Prellwitz The daily dietary selenium intake of West German adults. *Biol Trace Elem Res* 1989; 20:1-14.
38. Öncüer A, Tükenmez İ, Bakioglu T. Koyun ve sığırlarda nötral aktivasyon analizi ile bölgesel selenyum beslenme düzeyinin belirlenmesi. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg* 1996; 2:43-48.
39. Pehrson B, Ortman K, Madjid N, Trafikowska U. The influence of dietary selenium as selenium yeast or sodium selenite on the concentration of selenium in the milk of Suckler cows and on the selenium status of their calves *J Anim Sci* 1999; 77: 3371-6.
40. Piringçi İ, Tanyıldızı S ve Ateşşahin A. Elazığ bölgesinde yem ve yem hammaddeleri ile bazı meyve ve sebzelerde selenyum düzeyleri *Fırat Üniv Sağlık Bil Der* 1999; 13: 61-65.
41. Rogers, PAM, SP Arora, GA Fleming, RAP Crinion, JG McLaughlin. Selenium toxicity in farm animals: treatment and prevention. *Irish Vet J* 1990; 43:151-53.
42. Salman S, Khol-Parisini A, Schafft H, Lahrssen-Wiederholt M, Hulan HW, Dinse D, Zentek J. The role of dietary selenium in bovine mammary gland health and immune function. *Anim Health Res Rev* 2009; 10:21-34.
43. Salman S, Dinse D, Khol-Parisini A, Schafft H, Lahrssen-Wiederholt M, Schreiner M, Scharek-Tedin L, Zentek J. Colostrum and milk selenium, antioxidative capacity and immune status of dairy cows fed sodium selenite or selenium yeast. *Arch Anim Nutr* 2013 67(1):48-61.
44. Seboussi R, Faye B, Askar M, Hassan K, Alhadrami G. Effect of selenium supplementation on blood status and milk, urine, and fecal excretion in pregnant and lactating camel. *Biol Trace Elem Res* 2009; 128:45-61.
45. Shi L, Xun W, Yue W, Zhang C, Ren Y, Liu Q, Wang Q, Shi L. Effect of elemental nano-selenium on feed digestibility, rumen fermentation, and purine derivatives in sheep. *Anim Feed Sci Techn* 2011; 163:136-42.
46. Stockdale CR and Gill HS. Effect of duration and level of supplementation of diets of lactating dairy cows with selenized yeast on selenium concentrations in milk and blood after the withdrawal of supplementation. *J Dairy Sci* 2011; 94:2351-9.
47. Swecker WS Jr, Hunter KH, Shanklin RK, Scaglia G, Fiske DA, Fontenot JP. Parenteral selenium and vitamin E supplementation of weaned beef calves. *J Vet Intern Med* 2008. 22:443-9.
48. Swecker WS Jr, Eversole DE, Thatcher CD, Blodgett DJ, Schurig GG, Meldrum JB. Influence of supplemental selenium on humoral immune responses in weaned beef calves. *Am J Vet Res* 1989; 50:1760-63.
49. Tran PA, Sarin L, Hurt RH, Webster TJ. Differential effects of nanoselenium doping on healthy and cancerous osteoblasts in coculture on titanium. *Int J Nanomedicine* 2010; 5:351-8.
50. Weiss WP, Hogan JS. Effect of selenium source on selenium status, neutrophil function, and response to intramammary endotoxin challenge of dairy cows. *J Dairy Sci* 2005; 88:4366-74.

51. Weiss WP, Colenbrander VF, Cunningham MD, Callahan CJ. Selenium/vitamin E: role in disease prevention and weight gain of neonatal calves. J Dairy Sci 1983; 66:1101-7.
52. Wichtel JJ, Craigie AL, Freeman DA, Varela-Alvarez H, Williamson NB. Effect of selenium and iodine supplementation on growth rate and on thyroid and somatotropic function in dairy calves at pasture. J Dairy Sci 1996; 79:1865-72.
53. Yıldız G, Küçükersan K, Tuncer ŞD, Şahin T, Cevger Y. Besi sığırı rasyonlarına katılan organik selenyum ve mikotoksin bağlayıcının besi performansı ile bazı rumen parametreleri üzerine etkisi ve ekonomik yönden değerlendirilmesi. Ankara Üniv Vet Fak Derg 2003; 50:147-53.
54. Zazzo JF, Chalas J, Lafont A, Camus F, Chappuis P. Is nonobstructive cardiomyopathy in AIDS a selenium deficiency-related disease? J Paranter Enter Nutr 1998; 12:537-8.

**Yazışma Adresi:**

Prof. Dr. Osman KÜÇÜK  
Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim  
Dalı  
Kayseri-TÜRKİYE  
**E-posta:** okucuk@erciyes.edu.tr





## Sığırlarda Nakil Finesi ve Etkili Faktörler

Bülent TEKE

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Zootekni Anabilim Dalı,  
Samsun-TÜRKİYE

**Özet:** Nakil finesi hayvan nakilleri sırasında oluşan fizyolojik bir durumdur. Sığırlarda nakil firesinin düzeyi naklin optimum hayvan refahı koşullarında yapıp yapılmadığını gösteren önemli bir parametredir. Nakil süresi, nakil öncesi veya nakil sırasında yem ve su verilip verilmeyişi, nakil aracının dizaynı, çevre sıcaklığı, hayvanın yaşı ve mizacı nakil finesi üzerine etkili olan başlıca faktörlerdir. Bu faktörler içerisinde en etkili olanlar ise nakil süresi, nakil sırasında çevre sıcaklığı ve uzun nakillerde yem ve su desteği sağlanma durumudur. Nakillerin termoneötral sıcaklık aralığında yapılması, nakillerin mümkün olduğunca kısa sürdürülmesi, uzun nakillerde yem ve su desteğinin sağlanması gibi uygulamalar nakil firesini azaltabilecek, sığır alıcı ve satıcılarının karlılığını arttıracaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Hayvan refahı, nakil, nakil finesi, sığır

### Transportation Shrink and Factors Affecting Transportation Shrink in Cattle

**Summary:** Transportation shrink is a natural physiological condition that occurs during the transportation of animals. The level of transportation shrink is an important indicator shows if the cattle are transported within the optimum animal welfare conditions or not. The main factors affecting transportation shrink are transportation period, supplying water and feed to cattle before and after the transportation, the design of the vehicle used for transportation, temperature of the environment, age and temperament of the animal. The most effective ones among these factors are transportation period, temperature of the environment, feed and water support in long distance transportation. Transporting animals at a temperature within the thermoneutral conditions, shortening the period of transportation, and supplying feed and water during long distance transportation may decrease the transportation shrink and increase the profitability of cattle buyers and sellers.

**Key Words:** Animal welfare, cattle, transportation, transportation shrink

### Giriş

Karayolu nakilleri, sığırlarda strese neden olan başlıca faktörler arasında yer almaktadır (11, 29). Uygun koşullarda yapılmayan karayolu naklinin sığır eti kalitesine ve hayvan sağlığına olumsuz etkileri vardır (3). Nakil sırasında yükleme yoğunluğu, nakil süresi, nakil aracının dizaynı ve yataklık malzeme, sürücünün deneyimi, nakil aracındaki mikroklima, havalandırma, hayvanların indirilmesi ve yüklenmesi sırasında hayvana nasıl davranıldığı, hayvan refahını etkileyen en önemli faktörlerdir. Bu faktörler hayvanda stresin artmasıyla birlikte beden sıcaklığının artması, dehidrasyon, canlı ağırlıkta azalma, yorgunluk, yaralanma, immun sistemin zayıflaması ile hastalık ve hatta ölümlere neden olabilirler (34).

Nakil sırasında oluşan canlı ağırlık kaybı yani nakil firesinin düzeyi, nakil sırasında hayvan refahının durumu hakkında bilgi verebilir. Bunun yanı sıra nakil finesi oranının et kalitesi ve solunum sistemi enfeksiyonları gibi ekonomik geliri etkileyebilecek birçok parametre ile ilişkisinin olduğu tespit edilmiştir (3, 11). Leo Penu ve ark. (25), Endonezya'da deniz ve karayolunu ile 2800 km nakledilen sığırlarda hayvan

başına nakil firesinin 35.2 kg olduğunu hayvan başına ekonomik kaybın 83.52 \$ olduğunu ve ülkede nakil firesine bağlı yıllık 5.05 milyon \$ ekonomik kayıp şekillendiğini bildirmiştir.

Bu derlemede sığırlarda nakil sırasında oluşan canlı ağırlık kaybı (nakil finesi) ve bu fireyi etkileyen faktörleri incelemek amacıyla yapılmıştır.

### 1.Nakil Firesinin tanımı ve çeşitleri

Nakil sırasında hayvanların canlı ağırlıklarında oluşan azalmaya nakil finesi denir. Genellikle nakil öncesi canlı ağırlıktan nakil sonrası canlı ağırlık çıkarılıp 100 ile çarpılarak hesaplanır ve “%” olarak ifade edilir (8). Nakil finesi doğal fizyolojik bir durumdur ve nakil sonuna kadar kontrol edilmesi zordur (20). Nakil firesinin iki çeşidi vardır. Bunlardan birincisi dışkı ve idrar gibi atıklar sonucu oluşan atık finesi, ikincisi ise daha ileri aşamada vücudun tüm dokularından ekstra ve intra selüler sıvı madde kaybından kaynaklanan doku firesidir. Doku sıvısı kaybından kaynaklanan fire, daha çok olumsuz çevre şartlarında uzun mesafe nakil sonucunda ortaya çıkar. Bu fireden kaynaklanan kaybın geri kazanılması ve hayvanın kendini toparlayabilmesi için gerekli olan süre, diğer fire çeşidine göre daha fazladır (29). Naklin ilk saatlerinde nakil finesi çok daha fazla iken daha sonra bu oran

azalır (22, 38). Heitschmidt (21), laktasyondaki ineklerde naklin ilk 3 saati içinde saatte % 0.77 nakil firesi oluşurken, izleyen 21 saatte % 0.35 kadar fire oluştuğunu tespit etmiştir. Coffey ve ark. (10) tarafından da benzer sonuçlar bildirilmiştir. Warriss (41) araştırmasında, sığırlarda naklin ilk 24 saatinde beden ağırlığının % 3-11 arasında nakil firesinin oluştuğunu belirlemiştir.

## 2.Nakil Firesini etkileyen faktörler:

Nakil firesini etkileyen başlıca faktörler; taşınan hayvanın özellikleri (yaşı, cinsiyeti, canlı ağırlığı, vücut kondisyonu vb.), nakil koşulları (nakil süresi/mesafesi, nakil sırasında çevre sıcaklığı, nakil aracının dizaynı, sürücü vb.), nakil sürecinin yönetimi (nakil öncesi yem verilip verilmediği, uzun süreli nakillerde mola sırasında hayvanlara yem ve su sağlanma durumu, hayvanların nakil aracına yüklenme ve indirilme şekli, farklı kaynaklardan hayvanların karıştırılıp karıştırılmadığı vb.) şeklinde sıralanabilir (14, 28, 35). Bu faktörlerden bazılarının etkilerine ilişkin literatür bildirimleri aşağıda açıklanmıştır:

### 2.1.Nakil süresi / nakil mesafesi

Hayvanların nakli ile ilgili Türkiye ve Avrupa Birliği mevzuatına göre sığırların nakil süresi 8 saati geçiyorsa bu nakiller uzun mesafe nakil olarak tanımlanır. Nakil süresinin 8 saati geçmesi; vücuttaki enerji depolarının azalmasına su ihtiyacının artmasına ve sonuçta canlı ağırlık kaybının artmasına sebep olur (11). Avrupa Birliği (12) ve Türkiye nakil mevzuatına göre (4), sığırlar aralıksız olarak maksimum 14 saat nakledilebilirler ve bu nakli takiben en az 1 saat olmak kaydıyla dinlenmelerine izin verilmelidir. Dinlenme sırasında su ve yem ihtiyaçlarının karşılanmasını takiben 14 saat daha nakillerine izin verilebileceği bildirilmektedir. Nakil koşullarının iyi olması durumunda, 15 saatlik naklin sığırların refahına olumsuz etkisinin olmayacağı bildirilmiştir (41). Heitschmidt (21), 12 saat nakil yaptırılan sığırlarda nakil firesini % 6.6 olarak bildirmiştir. Self ve Gay (35) tarafından 1961-1971 tarihleri arasında 4685 sığırın ortalama 1023 km'lik (240-1824 km arasında) nakiline ait nakil firesi % 7.2-9.1 arasında bildirilmiştir. Bu çalışmada nakil mesafesi ve nakil firesi arasında her 100 km için % 0.38 nakil firesinin oluştuğu tespit edilmiştir. Aynı çalışmada, 966 km nakilde beden ağırlığı kaybının % 46.7'si bağırsak içeriğinden kaynaklanıyorken, geriye kalan kısım ise (% 53.3) doku sıvısının kaybindan kaynaklandığı tespit edilmiştir. Jones ve ark. (23), 2-48 saat arası değişen nakil sürelerinde nakil firesinin % 8'e kadar değiştiğini bildirmiştir. Addis ve George (2)'nin yaptığı çalışmada 1900 km nakledilen sığırlarda % 9.47 nakil firesi belirlenmiştir. Teke ve ark. (37), Macaristan - Ankara arasında 30 saat süren 1800 km nakil sonrasında 30 adet Simental sığırdaki % 5.15 nakil firesi bildirmiştir. Knowles ve ark. (24), 31 saat nakil sonucu sığırlarda % 7 nakil firesi tespit etmiştir.

### 2.2. Çevre sıcaklığının etkisi

Buzağılarda nakil firesi üzerine mevsimin etkisinin önemli olduğu, yaz aylarında ilkbahar ve sonbahara göre daha fazla nakil firesi oluştuğu bildirilmiştir (35). Harman ve ark. (20)'nin yaptığı çalışmada ise besi sığırlarının yaz ve sonbahar mevsimlerinde nakledilmeleri kış ve ilkbahar mevsimlerine göre daha fazla nakil firesine sebep olduğunu bildirmiştir. Nakil firesine çevre sıcaklığının etkisinin araştırıldığı Teke (36) tarafından yapılan çalışmada 1800 km nakil mesafesinde 121 adet nakil ile toplam 3874 sığır nakli incelenmiştir. Temmuz - Aralık 2010 tarihleri arasında yapılan nakillerde, nakil firesinin en yüksek Ağustos (% 8.39) ve Aralık (% 7.27) aylarında, en düşük ise Ekim (% 2.99) ve Kasım (% 1.77) aylarında olduğu tespit edilmiştir. Altı aylık sürede ortalama nakil firesinin % 5.57 olduğu bildirilmiştir. Çevre sıcaklığı ile nakil firesi arasındaki ilişki incelendiğinde sığırlar için termonötral sıcaklık aralığı içinde bulunan Ekim ve Kasım aylarında nakil firesi az iken termonötral sıcaklık aralığının dışında kalan Ağustos ve Aralık aylarında bu değerlerin yüksek olduğu gözlemlenmiştir. González ve ark. (16), 30 saatin üzerindeki uzun mesafe nakillerde, nakil firesinin çevre sıcaklığının artmasına paralel olarak arttığını bildirmiştir. Leo Penu ve ark. (25), Endonezya'da 2008 yılında Haziran - Temmuz ayları arasında West Timor ile Jakarta arasındaki 218 sığır naklini incelemiştir. Yaklaşık 2800 km nakil mesafesinde nakil firesinin % 8.5-17.3 arasında değiştiğini (ortalama %12.6) bildirmiştir. Philips ve ark. (29), sığırlar 18-34 °C'de nakledildikleri zaman -16 ile -6 °C arasında nakledilmelerine göre başlangıç beden ağırlıklarının % 15.8'i kadar daha fazla nakil firesi meydana geldiğini belirlemiştir. Friend ve ark. (13), 160 adet sığırın (ortalama 280 kg) yaz mevsiminde 11-12 saat nakledildiğini ve hayvanlarda nakil firesinin % 1.68-2.07 arasında değiştiğini bildirmiştir. Camp ve ark. (8), 1976-1978 yılları arasında sonbahar mevsiminde 965 adet buzağı 1600 km nakletmiş ve toplamda % 11.9 nakil firesi bildirmiştir. McDowell (26), sığırlar için termal konfor aralığının 5-25 °C olduğunu, sıcaklığın 25 °C'nin üzerine çıkmasıyla hayvanda rektal sıcaklık ve solunum sayısının arttığını, bu durumun canlı ağırlığının azalmasına sebep olduğunu bildirmiştir. Bryan ve ark. (7) tarafından Temperature Humidity Index (THI) ve nakil firesi arasında önemli bir pozitif ilişki olduğunu belirlemiştir. Greer ve ark. (19), yaz aylarında kesimhaneye gönderilen düvelerde nakil aracının treylerinde hayvanların yüksek sıcaklığa maruz kaldığını ve bu durumun nakil firesini artırdığını tespit etmiştir.

Çevre sıcaklığının 30 °C'nin üzerine çıkması durumunda sığırlarda birçok olumsuz etkinin görülebileceği belirtilmiştir (24). Randall (31), sığırlar termonötraliye aralığını ayarlama yeteneğine sahip oldukları için sığırlar için tam olarak kritik bir

çevre sıcaklık değerinin olmadığını ve ani sıcaklık değişiminin zararlı olabileceğini bildirmiştir.

Çevre sıcaklığı arttığında dışkı ve idrar çıkışının azaldığı ve canlı ağırlıkta meydana gelen azalmanın daha çok solunum sistemi yoluyla gerçekleştiği, çevre sıcaklığının azalması ile de gastrointestinal sistem motilitesi artışına bağlı olarak dışkı çıkışının arttığı ve canlı ağırlıkta azalma olduğu bildirilmiştir (29, 39).

### 2.3.Sütten kesim, yaş, canlı ağırlık ve vücut kondisyon skorunun etkisi

Uygun zamanda sütten kesilen ve direkt olarak annelerinden ayrılan buzağuların nakil firelerinin karşılaştırıldığı çalışmalarda (30, 33) direkt annelerinden ayrılanlarda daha fazla nakil firesi tespit edilmiştir. Sığırlarda yaşın ve beden ağırlığının artması ile nakil firesinin düştüğü Heitshmidt (21) ve Aiken ve Tabler (1) tarafından bildirilmiştir. Ergin veya vücut kondisyon skoru yüksek olan 500 kg'dan fazla olan sığırların, 400 km ve üzerindeki uzun mesafe nakillerinde, nakil firesinin diğer yaş ve kondisyon skorundaki hayvanlara göre daha fazla olduğu bildirilmiştir (16, 18). González ve ark. (17, 18), besi sığırlarının vücut kondisyon skoru yüksek olan sığırlardan % 3 daha fazla nakil firesine sahip olduğunu bildirmiştir.

### 2.4.Nakil aracı, sürücü ve nakilde görevli personelin etkisi

Camp ve ark. (8), buzağuların 1600 km nakledilmesi sonucunda treylerdeki kompartmanlar arasında nakil firesi bakımından fark olmadığını bildirmiştir. Bunun aksine Greer ve ark. (19) tarafından kompartmanlar arasında nakil fire farklılığının önemli olduğu; ön kompartmanda nakil firesinin arka kompartmandan daha az olduğu bildirilmiştir. Nakil firesi üzerine sürücü deneyiminin etkisi önemlidir. González ve ark. (15), sürücüleri deneyimlerine göre 2 yıldan az, 3-5 yıl arası, 6-10 yıl arası ve 10 yıldan fazla olmak üzere 4 grup oluşturmuştur. Sürücü deneyimlerine göre nakil firesi 6 yıl ve üzerinde en az iken 5 yıl ve altında daha fazla olduğu belirlenmiştir. Sığırların nakli sırasında görevli personelin hayvanlara davranışı da nakil firesi bakımından önemlidir. Kansas State Üniversitesi'nde yapılan bir çalışmada iki grup sığırdan birinci gruba iyi davranılırken diğer gruba ise kötü davranılmıştır. Onbir günlük periyod sonucu bir gecede oluşan fireyi tekrar yerine koymak için kötü muameleye maruz kalan hayvanların daha çok zamana ihtiyaç duydukları belirlenmiştir (9).

### 2.Nakil öncesi verilen yem katkı maddelerinin ve profilaktik uygulamaların etkisi

Sığırların nakli sırasında oluşan nakil firesi su ve yemden yoksun kaldığı periyotla direkt olarak ilişkilidir.

Çünkü bu maddelerin eksikliği ile dehidrasyon, enerjinin üretiminin azalması, önemli iyon düzeyinde ve protein katabolizmasında azalma meydana gelir (32, 40). Bu süre ne kadar fazla ve çevre koşulları ne kadar olumsuz ise nakil firesi de o ölçüde artmaya meyilli olacaktır. Nakil öncesi kesif yemle beslenen sığırlarda bu uygulamanın nakil firesini azalttığı ve nakil firesi ile oluşacak canlı ağırlık kaybını tekrar kazanmada kolaylık sağladığı bildirilmiştir (40). Philips ve ark. (28)'nin 13 ve 46 saat nakledilen sığırlarda yaptığı çalışmada nakil öncesi kuru otla beslenen sığırlarda, % 50 konsantre yemle beslenen sığırlara göre daha çok nakil firesinin olduğu bildirilmiştir. Schaefer ve ark. (32), nakil öncesi sığırların konsantre yemle beslenmesinin karkasta ağırlık kaybını ve et kalitesindeki düşmeyi önleyebileceğini bildirmiştir.

Coffey ve ark. (10), nakil öncesi merada birkaç saat otlatılarak oluşturulan sığır grubu ile otlatılmadan nakledilen grup nakil fireleri bakımından karşılaştırmış, nakil öncesi otlamasına izin verilen sığır grubunun daha az nakil firesine sahip olduğunu bildirmiştir. Bunun yanısıra Barnes ve ark. (5) ise nakil öncesi kuru otla besleme ile merada otlatma karşılaştırıldığında kuru otla beslemenin nakil firesini azaltacağını bildirmiştir.

Nakil öncesi yapılan yemlemenin yanısıra lasalosid, monensin gibi iyonoforların ve gliserol gibi profilaktik uygulamaların da nakil firesine etkisinin olduğu gözlemlenmiştir. Süt emen buzağulara nakil öncesi lasalosid içeren ve lasalosid içermeyen yem verilerek her iki grup 193 km nakledilmiştir. Nakil sonrası lasalosid içeren yemle beslenen grup % 45 daha az nakil firesine sahip olduğu tespit edilmiştir (6). Benzer şekilde nakil öncesi monensin gibi iyanoforlarla beslenen düvelerde de nakil firesinde önemli düzeyde azalma bildirilmiştir (10). Parker ve ark. (27), 24 ve 48 saat nakledilecek sığırlara nakil öncesi gliserol vermiş, çalışmanın sonucunda gliserol uygulamasının hiperhidrasyon oluşturarak beden su kaybının azalmasını sağladığı, plazma glikoz konsantrasyonunu artırarak hayvanın enerji ihtiyacını karşıladığı belirlenmiştir. Fakat bu faydalı etkilerinin ilk 24 saat devam ettiği, 24 saatten sonra azaldığı bildirilmiştir.

### Sonuç

Sığırlarda hayvan refahının indikatörü olarak kullanılabilen nakil firesinin et kalitesi ve solunum sistemi enfeksiyonları gibi ekonomik geliri etkileyebilen birçok faktörle yakın ilişkisi vardır. Nakil firesini etkileyebilen en önemli faktörler nakil mesafesi, çevre sıcaklığı ve uzun nakillerde su ve yem desteğinin yapılıp yapılmamasıdır. Çeşitli yem katkı maddeleri ve profilaktik destekle oranının düşürülmeye çalışıldığı çalışmalar yapılmaktadır. Bunun yanısıra

bu oranın artmasını önlemek için nakil süresinin mümkün olduğunca azaltılması, nakillerin mümkün olduğunca sığırlar için olumsuz etkinin minimum olduğu termonötral sıcaklık aralığında yapılması ve uzun mesafe nakil yapılacaksa yem ve su desteğinin yapılması önerilmektedir.

### Kaynaklar

1. Aiken GE, Tabler SF. Technical note: influence of fasting time on body weight shrinkage and average daily gain. *Prof Anim Sci* 2004; 20: 524-7.
2. Addis D, George C. Minimizing stress in feedlot replacements. 9th California Feeders Day, Univ of California, Davis 1969.
3. Arthington JD, Eicher SD, Kunkle WE, Martin FG. Effect of transportation and commingling on the acute-phase protein response, growth, and feed intake of newly weaned beef calves. *J Anim Sci* 2003; 81:1120-5.
4. Anonim (2011). Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. Hayvanların nakilleri sırasında refahı ve korunması yönetmeliği. [http://www.gkgm.gov.tr/mevzuat/yonetmelik/hayvan\\_nakil\\_refah\\_korunmasi\\_yonetmeliği.html](http://www.gkgm.gov.tr/mevzuat/yonetmelik/hayvan_nakil_refah_korunmasi_yonetmeliği.html). Erişim Tarihi 04.08.2013.
5. Barnes K, Smith S, Lalman D. Managing shrink and weighing conditions in beef cattle. Fact sheet F-3257. Oklahoma State University Cooperative Extension Service. Available at: [pods.dasn.okstate.edu/docushare/dsweb/Get/Document-30/F-3257pod.pdf](http://pods.dasn.okstate.edu/docushare/dsweb/Get/Document-30/F-3257pod.pdf). Erişim Tarihi 30.07.2013.
6. Brazle FK, Kuhl GL, Binns CE, Zoellner KO, Corah LR, Schalles RR. The influence of limited-creep feeding on pre and post-weaning performance of spring born calves. *J Anim Sci* 1991; 69 (Suppl. 1): 76.
7. Bryan M, Schwartzkopf-Genswein KS, Crowe T, González L, Kastelic J. Effect of cattle liner microclimate on core body temperature and shrink in market-weight heifers transported during summer months. *J Anim Sci* 2010; 88 (Suppl. 2): 20.
8. Camp TH, Stevens DG, Stermer RA, Anthony JP. Transit factors affecting shrink, shipping fever and subsequent performance of feeder calves. *J Anim Sci* 1981; 52: 1219-24.
9. Camp TH, Stermer RA, Stevens DG, Anthony JP. Shrink of feeder calves as an indicator of incidence of bovine respiratory disease and time to return to purchase weight. *J Anim Sci* 1983; 57 (Suppl.1): 66.
10. Coffey KP, Brazle FK, Higgins JJ. Effects of gathering time on weight and shrink of steers grazing smooth bromegrass pastures. *Prof Anim Sci* 1997; 13: 170-5.
11. Cook NJ, Veira D, Church JS, Schaefer AL. Dexamethasone reduces transport-induced weight losses in beef calves. *Can J Anim Sci* 2009; 89: 335-9.
12. European Commission (EC) (2005). Council Regulation (EC) No. 1/2005 of 22 December 2004 on the protection of animals during transport and related operations and amending Directives 64/432/EEC and 93/119/EC and Regulation (EC) No 1255/97. *Off J, Le 5/01/2005* (pp. 1-44).
13. Friend TH, Giguere NM, Krawczel PD. Cross ventilation in commercial livestock trailers shows promise for improving comfort, reducing weight loss and reducing environmental contaminants. *J Anim Sci* 2007; 85 (Suppl.1): 362.
14. Grandin T. Assessment of stress during handling and transport. *J Anim Sci* 1997; 75: 249-57.
15. González LA, Schwartzkopf-Genswein KS, Bryan M, Silasi R, Brown F. Benchmarking study of industry practices during commercial long haul transport of cattle in Alberta. *J Anim Sci* 2012; 90: 3606-17.
16. González LA, Schwartzkopf-Genswein KSG, Bryan M, Silasi R, Brown F. Factors affecting body weight loss during commercial long haul transport of cattle in North America. *J Anim Sci* 2012; 90(10): 3630-9.
17. González LA, Schwartzkopf-Genswein KS, Bryan M, Silasi R, Brown F. Space allowance during commercial long distance transport of cattle in North America. *J Anim Sci* 2012; 90(10): 3618-29.
18. González LA, Schwartzkopf-Genswein KS, Bryan M, Silasi R, Brown F. Relationships between transport conditions and welfare outcomes during commercial long haul transport of cattle in North America. *J Anim Sci* 2012; 90: 3640-51.
19. Greer T, Schwartzkopf-Genswein KS, Crowe T, González LA. The effect of transport distance on cattle liner microclimate, live weight loss and carcass quality of finished heifers during summer transport. *Proceedings of the Canadian Society of Animal Science Halifax, NS, May 4-5, 2011*; p. 80.
20. Harman BR, Brinkman MH, Hoffman MP, Self HL. Factors affecting in-transit shrink and liver abscesses in fed steers. *J Anim Sci* 1989; 67: 311-7.



21. Heitschmidt RK. Diurnal variation in weight and rates of shrink of range cows and calves. *J Range Manage* 1982; 35: 717-20.
22. Jones SDM, Schaefer AL, Tong AKW, Vincent BC. The effects of fasting and transportation on beef cattle. 2. Body component changes, carcass composition and meat quality. *Livest Prod Sci* 1988; 20: 25-35.
23. Jones SDM, Schaefer AL, Robertson WM, Vincent BC. The effects of withholding feed and water on carcass shrinkage and meat quality in beef cattle. *Meat Sci* 1990; 28: 131-9.
24. Knowles TG. A review of the road transport of cattle. *Vet Rec* 1999;144:197-201.
25. Leo Penu CLO, Jermias AJ Tulle DR, Jelantik IGN, Copland RS. Body weight loss of Bali cattle (*Bos sondaicus*) during transport from West Timor to Jakarta, Indonesia. *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.* 2010. vol. 28: 19.
26. McDowell RE. *Improvement of Livestock Production in Warm Climates* 1972; 410-49. Freeman: San Francisco, USA
27. Parker AJ, Dobson GP, Fitzpatrick LA. Physiological and metabolic effects of prophylactic treatment with the osmolytes glycerol and betaine on *Bos indicus* steers during long duration transportation. *J Anim Sci* 2007; 85: 2916-23.
28. Philips WA, Cole NA Hutcheson DP. The effect of diet on the amount and source of weight lost by beef steers during transit or fasting. *Nutr Rep Int* 1985; 32: 765-76.
29. Philips WA, Juniewicz PE, von Tungeln DL. The effect of fasting, transit plus fasting, and administration of adrenocorticotrophic hormone on the source and amount of weight lost by feeder steers of different ages. *J Anim Sci* 1991; 69: 2342-8.
30. Pritchard RH, Mendez JK. Effects of preconditioning on pre- and postshipment performance of feeder calves. *J Anim Sci* 1990; 68: 28-34.
31. Randall J. Environmental parameters necessary to define comfort for pigs, cattle and sheep in livestock transporters. *Anim Prod* 1993; 57: 299-307.
32. Schaefer AL, Dubeski PL, Aalhus JL, Tong AKW. Role of nutrition in reducing antemortem stress and meat quality aberrations. *J Anim Sci* 2001; 79: 91-101.
33. Schwartzkopf-Genswein KS, Booth-McLean ME, Shah MA, Entz T, Bach SJ, Mears GJ, Schaefer AL, Cook N, Church J, McAllister TA. Effects of pre-haul management and transport duration on beef calf performance and welfare. *Appl Anim Behav Sci* 2007; 108: 12-30.
34. Schwartzkopf-Genswein KS, Faucitano L, Dadgar S, Shand P, González LA, Crowe TG. Road transport of cattle, swine and poultry in North America and its impact on animal welfare, carcass and meat quality: A review; *Meat Sci* 2012; 92: 227-43
35. Self HL, Gay N. Shrink during shipment of feeder cattle. *J Anim Sci* 1972; 35: 489-94.
36. Teke B. Shrink and mortality of beef cattle during long distance transportation. *Anim Welfare* 2013; 22 (3): 379-84.
37. Teke B, Akdag F, Ekiz B, Ugurlu M. Effects of different lairage times after long distance transportation on carcass and meat quality characteristics of Hungarian Simmental bulls. *Meat Sci* 2014; 96 (1): 224-9.
38. Ünal N. *Hayvan Refahı Ders Notları*. 2007. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Zootekni Anabilim Dalı, Ankara. s. 53.
39. Young BA. Cold stress as it affects animal production. *J Anim Sci* 1981; 52: 154-63.
40. Fike K, Spire MF. Transportation of cattle. *Vet Clin Food Anim* 2006; 22: 305-20.
41. Warriss PD, Brown SN, Knowles TG, Kestin SC, Edwards JE, Dolan SK, Phillips AJ. Effects on cattle of transport by road for up to 15 hours. *Vet Rec* 1995; 136: 319-23.

**Yazışma Adresi:**

Yrd. Doç. Dr. Bülent TEKE

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Zootekni Anabilim Dalı 55200 Atakum / Samsun

Tel: 0362 312 19 19 / 3481

**E-posta:** bulentteke@gmail.com





## Nitrik Oksitin Hayvanlarda Beslenme Davranışı ve Bağırsak Motilitesi Üzerine Etkisi\*

Tuba BÜLBÜL

Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları AD 03200, Afyonkarahisar-TÜRKİYE

**Özet:** Nitrik oksit (NO), L-arginin amino asidinden NO sentaz enzimi aracılığı ile sentezlenen gaz yapısında bir radikaldir. Nitrik oksit, NO sentaz enziminin izoformlarına göre organizmada pek çok sistem üzerinde farklı fizyolojik etkiler göstermektedir. Nitrik oksitin hayvanların beslenme davranışlarına ve bağırsak motilitesi üzerine olan düzenleyici etkisi, merkezi ve çevresel sinir sisteminde nörotransmitter olarak görev yapmasına bağlanmaktadır. Bu derlemede son yıllarda merkezi ve çevresel sinir sisteminde NO'nun özellikle hayvanlardaki beslenme davranışı ve barsak motilitesi üzerine olan etkileri irdelenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Barsak motilitesi, beslenme davranışı, nitrik oksit

### Effect of Nitric Oxide on Feeding Behaviour and Intestinal Motility in Animals

**Summary:** Nitric oxide (NO) is a radical in the form of gas and synthesized from L-arginine amino acid by NO synthase enzyme. It has different physiological effects on multiple organism systems according to the isoforms of NO synthase enzyme. It is suggested that NO plays a key role as a neurotransmitter in central and peripheral nervous system for the regulation of feeding behavior and intestinal motility. In this review, recently published data regarding the effect of NO in central and peripheral nervous systems on feeding behavior and intestinal motility of animals were evaluated.

**Key Words:** Feeding behaviour, intestinal motility, nitric oxide

### Giriş

Nitrik oksit (NO) memelilerin etkin salgı ürünleri içinde düşük molekül ağırlığına sahip, yağda çözünen, hücre zarından kolaylıkla geçebilen, yarılanma ömrü bir kaç saniye olan, kimyasal etkinliği çok yüksek bir moleküldür (35, 59, 73).

İlk kez damar endotel hücrelerinden salıverilerek vazodilatasyona neden olduğu gösterilen nitrik oksit lökositler, makrofajlar, fibroblastlar, kuppfer hücreleri, böbrek tubulus epitel hücreleri ve mast hücreleri gibi pek çok hücrede sentez edilip salıverilen serbest radikal niteliğinde endojen bir maddedir (56). Nitrik oksitin, merkezi ve çevresel sinir sisteminde nörotransmitter işlev gördüğü de ileri sürülmektedir (60). Bu yönde yapılan araştırmalarda NO'nun sinir sistemi (26), dolaşım sistemi (50), solunum sistemi (44), sindirim sistemi (5, 6, 64, 71), genital sistem (4) ve immun sistem (34, 41) gibi pek çok sistemde önemli fonksiyonlarının bulunduğu ortaya konulmuştur. Bunlar arasında, merkezi ve çevresel sinir sistemi üzerine olan etkisiyle hayvanların beslenme davranışı ve mide-barsak fonksiyonlarının düzenlenmesine

yönelik NO'nun etkisi son yıllarda üzerinde çalışılan konular arasına girmiştir (7, 8, 14, 48).

### Nitrik Oksitin Tarihçesi

Nitrik oksit, ilk kez 1979'da siklik guanilat monofosfat üzerinden etki gösteren vasküler bir düz kas gevşetici olarak tanımlanmıştır (29). Furchgott ve Zawadzki (25) tarafından "endotel kaynaklı gevşetici faktör" adını verdikleri bu maddenin 1987 yılında L-arginin tarafından salınan, serbest bir radikal olan NO olduğu belirlenmiştir (57). Bu yeni molekül, 1992'de biyolojik öneminden dolayı Science dergisi tarafından "yılın molekülü" olarak seçilmiştir (40). Nitrik oksitin kalp-damar sistemindeki etkilerini ortaya çıkaran çalışmaları nedeniyle 1998'de Furchgott, Ignarro ve Murad, Nobel Tıp Ödülü'nü kazanmışlardır (65). Daha sonra bu molekülün, merkezi ve çevresel sinir sisteminde bir nörotransmitter olarak birçok olayda etkili olduğu ileri sürülmüştür (26, 44).

### Nitrik Oksitin Kimyasal Özellikleri ve Metabolizması

Nitrik oksit, atmosferde yaygın bulunan azot (N) ve oksijen (O) gazlarının bileşimiyle oluşan azot monoksit yapısında bir gazdır. Molekül ağırlığının düşük ve yağda çözünürlüğünün iyi olması nedeniyle hücre zarından kolaylıkla geçebilmektedir. Paylaşılmamış elektronu ile oksijen, oksijen radikalleri; demir, bakır, kobalt ve manganez gibi metallerle hızlı reaksiyona girer (35, 73).

Geliş Tarihi / Submission Date : 24.10.2013

Kabul Tarihi / Accepted Date : 10.01.2014

\*Bu derleme Turkish congress, expo and workshops on honey and honeybee products with international participation, Erciyes University Sabancı Congress Center, 22-26th February 2012' kongresinde poster olarak sunulmuş ve özeti bildiri kitabında yer almıştır.

Nitrik oksit birçok hücrede enzimatik olarak L-arjinin amino asidinden sentezlenmektedir (15,38). L-arjininden NO sentezi iki basamakta olup birinci basamakta L-arjininin bir molekülü ara ürün olan NG-hidroksil-L-arjinin oluşturmak için oksitlendirilir. Bu reaksiyonun gerçekleşmesi için nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) ve oksijen gereklidir. İkinci basamakta NG-hidroksil-L-arjinin bir basamak daha oksitlenerek bir molekül L-sitrülin ve NO oluşturmaktadır (37, 63).

Nitrik oksit oluşumunda yer alan enzim grubunun ismi, nitrik oksit sentaz (NOS)'dır (38). Nitrik oksit sentazın düzenleme ve etkinlik yönünden yapısal (cNOS) veya uyarılabilir (iNOS) olarak ifade edilen iki tipi bulunmakta olup yapısal NOS, nöronal (nNOS) ve endotelial (eNOS) izoformlardan oluşmaktadır (1, 24). Yapısal nitrik oksit sentaz (cNOS), beyin ve endotel hücrelerinde bulunmaktadır. Yapısal nitrik oksit sentazın izoformları olan nNOS ve eNOS'un oluşumu için NADPH ve Ca<sup>2+</sup>/kalmodülin'e gereksinim duyulmaktadır (24). Nitrik oksit sentazın uyarılabilir şekli (iNOS) ise makrofajlarda, nötrofillerde (24), karaciğer hücrelerinde (18) tespit edilmiş olup NO oluşumu için NADPH ve tetrahidrobiopterin (BH4) gereklidir (1). Nöronal nitrik oksit sentaz ve eNOS, az miktarlarda NO sentezlenmesinde etkili olurken; iNOS, çeşitli uyarılara cevapta yüksek miktarda NO sentezlenmesini sağlamaktadır (28).

### Nitrik Oksit Kaynakları

Nitrik oksit, en fazla balık ve diğer hayvansal ürünler başta olmak üzere; fasulye, soya gibi baklagiller; yulaf, buğday gibi tahıllar ile fındık, ceviz gibi sert kabuklu yemişlerde bulunmaktadır (3). Bunun yanında, arjinin düzeyi kuru madde bazında tahıllarda % 0.49-0.80, küspelerde % 2.60-3.65 olurken; hayvansal kökenli yemlerde bu düzey, % 3.54-4.46 arasında değişmektedir (21). Hayvanların tükettikleri yemlerin içerdiği arjinin düzeyi, organizmada sentezlenecek NO miktarını ve bunun sonucu olarak kandaki NO düzeyini etkilemektedir (7). Ayrıca, kan NO düzeyini artırmak için NO kaynağı olarak daha çok arjinin ya da sodyum nitropurisit (SNP) kullanılmaktadır (15). Memelilerde arjinin sentezi, glutamat ve prolin üzerinden üre döngüsü yoluyla yapılmaktadır. Sentez için gerekli enzimler karaciğerde ve bağırsak mukozasında bulunur. Bu dokularda sitrülin oluştuktan sonra, hemen arjinine dönüşür veya kan dolaşımına geçer. Dolaşımdaki sitrülin, böbrekler tarafından alınır ve arjinine çevrilerek taşıyıcı proteinlerle diğer dokulara taşınır (28, 55). Kanatlılar ise üreolitik olduklarından üre döngüsünü tamamlayamamakta ve arjinin sentezleyememektedir (66).

Nitrik oksit sentezinde L-arjinin, özgül bir şekilde NO'ya dönüşmektedir. Buna karşın, arjiinin izomerleri

ve analogları L-arjinin ile rekabet ederek NOS'un etkinliğini engellemektedir. Bunlar: N-nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME), N-nitro-L-arjinin (L-NNA) ve N-monometil-L-arjinin (L-NMMA)'dır (51, 58). Bu analoglar, seçkin olmayan inhibitörler olup etkinlikleri dışarıdan uygulanan L-arjinin ile sonlanabilmektedir (27, 31).

### Nitrik Oksitin Etkileri

Nitrik oksitin tüm vücutta çok farklı etkileri bulunmaktadır. Bu molekül, özellikle sistemik dolaşımda ve lokal olarak kalp, beyin, karaciğerde damar düz kaslarının gevşemesine yol açarak kan akışı ve basıncının ayarlanmasını sağlamaktadır (45, 50). İmmunomodülatör, antimikrobiyel ve tümorisidal etkisi ile de immün sisteminin düzenlenmesinde rol oynamaktadır (49).

Merkezi ve çevresel sinir sisteminde NO, bir nörotransmitter gibi rol oynayarak merkezi sinir sisteminde hafıza oluşumu, serebral kan akımının sinirsel kontrolü, nöroendokrin regülasyon, ağrının modülasyonu, sinirsel aktivitenin otoregülasyonu, dengenin sağlanması, uyarı geçişi, koku alma ve beslenme davranışı gibi birçok fonksiyon üzerinde etki göstermektedir (19). Çevresel sinir sisteminde ise nonadrenerjik ve nonkolinerjik sinirleri etkileyerek damar genişlemesi, solunum, ürogenital ve mide-barsak fonksiyonlarının düzenlenmesine yardımcı olmaktadır (8,19, 44, 50).

### Nitrik Oksit ve Kaynaklarının Beslenme Davranışı ve Verim Üzerindeki Etkisi

Nitrik oksitin beslenme davranışının düzenlenmesindeki etkinliği, merkezi sinir sistemi üzerinde NO'nun etkisi ile olmaktadır (11, 32, 52). Bu davranışlardan biri olan yem tüketiminin kontrolü ile ilgili beyin merkezleri balık, kemirgen, memeli ve kanatlılarda hipotalamusta bulunmaktadır (23, 42). Bu merkezin aktivasyonu veya inhibisyonu birçok hormon ve nörotransmitter sistemlerin kontrolü altındadır. Yapılan araştırmalar, bu bölgede yüksek yoğunlukta NOS aktivitesinin varlığını göstermiştir (8, 53).

Nitrik oksit kaynaklarının kullanıldığı araştırmalarda NO'nun endojen kaynağı olan arjininin kanatlı rasyonlarına ilavesinin etkileri ile ilgili çok farklı bildirimler mevcuttur. Nitekim rasyonda arjininin hayvanın ihtiyaç düzeyinin altında ya da çok üzerinde bulunmasının canlı ağırlık artışı ve yem tüketimini azalttığı (13, 41), ihtiyacın çok üzerindeki arjinin ilavesinin ise canlı ağırlık artışı ve yem tüketimini değiştirmedığı (34) bildirilmektedir. Yine kanatlılarda büyümenin desteklenmesi ve geliştirilmesi (16, 17, 34), optimum karkas ağırlığı ve randımanı (14,16), azot dengesi (16), protein metabolizması (70) için rasyona dengeli L-arjinin katılması gerekliliği ortaya

konulmuştur. Broilerlerde yapılan bir araştırmada 0-21. günlerde rasyonda artan arjinin düzeyleri ile canlı ağırlık ve canlı ağırlık artışının azaldığı ya da baskılandığı görülürken, yem tüketimi ve yemden yararlanma oranının etkilenmediği tespit edilmiştir (14). Bir başka araştırmada üç farklı dönemde (0-10., 11-28. ve 29-42. günler arasında) broiler rasyonlarına gereksinimin altında, gereksinim düzeyi ve fazlası olacak şekilde arjinin ilave edilmiştir. Araştırma sonunda arjinin düzeylerinin 0-10. günler arasında canlı ağırlık artışı, yem tüketimi ve yemden yararlanma oranını değiştirmede; 11-42. günler arasında arjininin % 10 fazlasının ise canlı ağırlık artışı, yem tüketimi ve yemden yararlanmayı olumlu yönde etkilediği saptanmıştır (7). Sahin ve ark. (61) tarafından yapılan araştırmada ısı stresi altında bulunan bıldırcınlarda karma yeme arjinin ilavesi canlı ağırlık artışı, yem tüketimi ve yemden yararlanma oranını etkilememiştir. Balıklarda yapılan araştırmalarda yeme katılan arjininin artan dozuna bağlı olarak canlı ağırlığı artırdığı (36, 46) ve yemden yararlanma oranını olumsuz etkilediği (36) bulunmuştur.

Leptin de NOS düzeyinin ayarlanmasında önemli bir rol oynayarak NO miktarını etkilemektedir (54). Yem tüketiminin kontrolünde nörotransmitter yakalayıcı NO'nun (67) beyinde leptin etkilerine karıştığından yola çıkarak yapılan çalışmada leptin ve L-arjininin yem tüketimi ve canlı ağırlık artışı üzerine olan etkisi intrakranial enjeksiyon ile değerlendirilmiştir. Araştırma sonucunda, beyin L-arjinin/NO yolunun farelerde beslenme davranışı ve canlı ağırlık artışı üzerine leptinin sentral etkisinin olduğu saptanmıştır.

Aynı zamanda, merkezi sinir sistemine leptin uygulamasının beslenme davranışı ve ilerleyen ağırlık kaybını engellediği, hatta leptinin L-arjinin ile birlikte verilmesinin normal beslenme davranışı ve canlı ağırlık artışını iyileştirdiği bulunmuştur. İntrakranial olarak leptin uygulaması, diensefalik nNOS aktivitesini azaltmıştır. Böylece, farelerdeki beslenme davranışında leptinin beyin üzerindeki etkilerine L-arjinin/NO yolunun aracılık ettiği görülmüştür (12). Broiler ve yumurta tavuklarında da beslenme davranışının düzenlenmesinde leptinin NO ile olan etkileşimi sonucu, yem tüketimi ve canlı ağırlık artışının olumlu etkilendiği ifade edilmektedir (72). Bu çalışmalardan farklı olarak leptin ile adipoz dokudan anoreksijenik hormon salınımının civcivlerde beslenme davranışını inhibe ettiği de bildirilmektedir (20). Buna karşın ratlarda NO'nun üretimi ise leptin ile azaltılmaktadır (69). Nitrik oksitin ekzojen kaynağı olan SNP'nin ise yumurtacı civcivlerde doza bağlı olarak intraperitoneal (İP) uygulamasının yem tüketimini engellediği (15) veya rasyona ilavesi ile bıldırcınlarda yem tüketimini artırdığı (47) bildirilmektedir. Bıldırcınlarda 0-42. günler arasında gerçekleştirilen

bir araştırmada SNP'nin deneme süresince rasyona ilave edildiği tüm düzeylerinin canlı ağırlık artışını baskılayarak, yüksek düzeyinin yem tüketimini azalttığı, düşük düzeyinin ise yemden yararlanma oranını olumsuz etkilediği belirtilmiştir. Yine yüksek SNP düzeyinin ovaryumdaki primer ve premordiyal folliküllerin sayısını yükselttiği, dolayısıyla primer ve premordiyal folliküllerde dejenerasyonu engellediği kanısına varılmıştır (10). Yumurtacı bıldırcınlarda yapılan bir araştırmada ise L-arjinin ve SNP'nin rasyona ilavesi ile yumurta üretiminin arttığı, buna bağlı olarak NO'nun bıldırcınlarda yumurta üretimi ve ovulasyon mekanizmasının kontrolünde görev alabileceği ifade edilmektedir (48).

Nitrik oksit sentaz inhibitörlerinin kullanıldığı çalışmalarda bu maddelerin, genetik obesite dışında sağlıklı kemirgenlerde anorektik etkilere neden olduğu (32), hem zayıf hem de obez ratlarda canlı ağırlık artışını azalttığı (68) bildirilmiştir. Nitrik oksit ve canlı ağırlık arasındaki ilişkinin incelendiği bir çalışmada ise 18 saat boyunca yem verilen farelerde L-NAME'in doza bağlı olarak yem tüketimini azalttığı ve ağırlık kaybına neden olduğu belirtilmiştir (53). Nitrik oksit inhibitörlerinden L-NNA'nın ise İP enjeksiyonunun canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanma oranını olumsuz etkilediği ifade edilmektedir (30). Kanatlılarda yapılan bir çalışmada L-NAME'in intraserebroventriküler enjeksiyonu, yumurtacı civcivlerde yem tüketimini artırırken; İP uygulaması, hem broiler hem de yumurtacı civcivlerde yem tüketimini azaltmıştır (33). Bununla birlikte periferik yolla uygulanan L-NAME'in, yem tüketiminden sorumlu bir nöropeptit olan Nöropeptit Y (NPY)'nin neden olduğu yem tüketimindeki artışı inhibe ettiği belirlenmiştir (53).

Bıldırcınlarda 0-42. günler arasında gerçekleştirilen araştırmada L-NAME'in rasyondaki artan düzeyinin canlı ağırlık artışını baskıladığı, yem tüketimini artırdığı, yemden yararlanma oranını olumsuz etkilediği saptanmıştır. Ayrıca, kesim sonrasında bıldırcınlarda karkas ağırlığı ile karaciğer, kalp, dalak, bezli mide, taşlık ve tersiyal follikül ağırlıkları gibi karkas kalite özellikleri L-NAME düzeylerinden etkilenmemiştir (10). Yumurtacı bıldırcınlarda Manwar ve ark. (48)'nin yaptığı bir araştırmada da İP olarak uygulanan L-NAME'in bıldırcınlarda yumurta verimini etkilemediği ifade edilmiştir. Balıklarda ise L-NAME'in yeme karıştırıldığı bir çalışmada bu hayvanların yem tüketim bölgesinin bu madde ile inaktif edildiği ve yine çalışmanın ilerleyen zamanında balıklarda yem tüketiminin azaldığı ve buna bağlı olarak ağırlık kayıpları ve ölümlerin olduğu gözlenmiştir. Aynı çalışmada, L-arjinin ve L-NAME karışımını içeren yemle beslenen balıklarda bu maddelerin birbirini etkilediği ve canlı ağırlık artışını değiştirmedeği belirlenmiştir (36).

## Nitrik Oksit ve Kaynaklarının Bağırsak Motilitesi Üzerine Etkisi

Sindirim sisteminde adrenarjik ve kolinerjik olmayan sinirlerden salınan kimyasal araçlar ile ortaya çıkan baskılayıcı etki uzun zamandan beri bilinmektedir (64). İmmünohistokimyasal incelemelerde beyin dışındaki nöronlarda nNOS varlığı belirlenirken, bunlardan NO sentezlendiği kanıtlanmıştır. Otonom sinir sistemi ile ilişkili olarak ince bağırsakta myenterik pleksusun nöron ve sinir liflerinde nNOS'un yoğun bir şekilde bulunduğu saptanmıştır (8, 28). Nitrik oksit, mide-bağırsak sisteminde salgılama, gerilim ve motilite, kan akımı, elektrolit ve su emilimi, mukozal koruma ve yangı gibi olaylara etki etmektedir. Nitrik oksit midede kan akımını artırırken, vagal uyarı veya histaminle tetiklenen asit salgılanmasını azaltmaktadır. Ayrıca mide kaslarının gerginliğini ve kas hareketliliğini baskılayarak, duodenal mukus salgılanmasını artırarak mide asidine karşı mukozal koruma sağlamaktadır (62, 64).

Mide-bağırsak sisteminde ise NO'nun motorik ve sekretorik işlevinin bulunduğu, bağırsaklarda motilitenin düzenlenmesinde görev alırken, emilime de yardımcı olduğu bildirilmektedir (64). Memelilerde yapılan in vitro araştırmalarda arjininin doza bağlı olarak ince barsak (62) ve kolon (5, 6) kasılımlarının şiddetini azalttığı belirlenmiştir. Sodyum nitropurisit ile ileal spontan kasılımlarda azalmaya neden olmuştur (62). Kanatlılarda NO kaynağı ve inhibitörlerinin kullanıldığı çalışmaların birinde NO kaynağı olarak broyler rasyonlarına ilave edilen L-arjininin duodenum spontan kasılımların şiddetini (7), kolonda ise frekansını (9) azalttığı saptanmıştır.

Broylerlerde yapılan diğer bir çalışmada ise rasyona NO kaynağı olarak SNP, inhibitörü olarak da L-NAME ilave edilmiştir. Araştırma sonunda, jejunum sinir tellerinde belirlenen nNOS ekspresyonunun SNP ile arttığı, buna karşın L-NAME ile baskılandığı bulunmuştur (8).

Aynı zamanda NO immunomodülatör, antimikrobiyel ve tümorisidal etkisi ile immun sistem üzerinde etkili olmaktadır (49). Bu yönde yapılan araştırmalarda özellikle arjinin yetersizliğinin (39) ve arjinin katkısının (34, 41, 43) kanatlılarda hücrel immun yanıt üzerinde, lenfoid organ gelişimi ve antikor üretiminde etkili olduğu belirtilmektedir. Bu etkilerin rasyondaki arjininin makrofajlarda NO salınımını artırması ile de oluştuğu ifade edilmektedir (34, 41, 70). Yara iyileşmesinde (22), bazı kanatlı parazitlerine karşı vücudun savunulmasında da arjininin rolü olduğu bildirilmiştir (2). Buna karşın, broyler civciv rasyonlarına gereksinim düzeyinin üzerinde katılan arjininin lenfoid organ ağırlıkları, Newcastle hastalığına karşı aşılanaalarda plazmadaki antikor titresi üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı saptanmıştır (34).

## Sonuç

Organizmada pek çok sistemde önemli görevlere sahip olan NO merkezi sinir sisteminde beslenme davranışlarının düzenlenmesinde, çevresel sinir sisteminde ise mide-bağırsak fonksiyonlarının düzenlenmesinde etkili olmaktadır. Bu yönde yapılan araştırmalarda NO'nun etkinliği, bu molekülün öncül ve inhibitörlerinin rasyona ilave edilmesinin yanında farklı yollarla da hayvanlarda uygulanarak ortaya konulmuştur.

## Kaynaklar

1. Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG. Nitric oxide synthase: structure, function and inhibition. *Biochem J* 2001; 357: 593-615.
2. Allen PC, Fetterer RH. Effect of *Eimeria acervulina* infections on plasma L-arginine. *Poultry Sci* 2000; 79: 1414-7.
3. Anonim. Foods that are high in nitric oxide. [http://www.ehow.com/info\\_7910936\\_foods-high-nitric-oxide.html#ixzz29XXGdBET](http://www.ehow.com/info_7910936_foods-high-nitric-oxide.html#ixzz29XXGdBET). Erişim Tarihi: 09.01.2013.
4. Bulbul A, Yagci A, Altunbas K, Sevimli A, Celik HA, Karadeniz A, Akdag A. The role of nitric oxide in the effects of ovarian steroids on spontaneous myometrial contractility in rats. *Theriogenology* 2007; 68: 1156-68.
5. Bulbul A, Altunbas K, Yağcı A, Celik HA, Avcı G, Yıldız Gulay O, Gulay MS. Effects of 17B-estradiol on distal colon contractility and L-arginine-NOS-NO-cGMP-PK 1 pathway. *J Anim Sci* 2008; 86: 62.
6. Bulbul A, Yagci A, Altunbas K, Celik HA, Avcı G, Yıldız Gulay O, Gulay MS. Effects of ovarian steroids on distal colon contractility and L-arginine-NOS-NO-cGMP-PK 1 pathway. *J Anim Sci* 2008; 86: 61.
7. Bulbul T, Bozkurt Z, Ulutas E, Yılmaz O, Bulbul A. The effect of L-arginine on growth performance, some serum biochemical parameters and duodenal motility in broilers. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2013; 19 (5): 821-7.
8. Bulbul A, Bulbul T, Sevimli A, Yılmaz O. The effect of dietary supplementation of nitric oxide donor and inhibitor on nNOS expression and motility of small intestine in broilers. *Biotech Histochem* 2013; 88: 258-66.
9. Bülbül A, Bülbül T, Ulutaş E. Broylerlerde L-arjininin kolon motilitesi üzerine etkisinin belirlenmesi. Altıncı Ulusal Hayvan Besleme Kongresi, 29, Haziran-2, Temmuz, 2011; Samsun-Türkiye.

10. Bülbül T, Özdemir V, Akosman MS, Bülbül A, Ulutaş E. Bildircin rasyonlarına sodyum nitroprusit ve N-nitro-L-arginin metil ester ilavesinin besi performansı, ovaryum primer ve primordial folliküller üzerine etkisi. Yedinci Ulusal Hayvan Besleme Kongresi, 25-27, Eylül, 2013; Ankara-Türkiye.
11. Calapai G, Squadrito F, Altavilla D, Zingarelli B, Campo GM, Cilia M, Caputi AP. Evidence that nitric oxide modulates drinking behaviour. *Neuropharmacol* 1992; 31: 761-4.
12. Calapai G, Corica F, Allegra A, Corsonello A, Sautebin L, De Gregorio T, Di Rosa M, Costantino G, Buemi M, Caputi AP. Effects of intracerebroventricular leptin administration on food intake, body weight gain and diencephalic nitric oxide synthase activity in the mouse. *Br J Pharmacol* 1998; 125: 798-802.
13. Carew LB, Evarts KG, Alster FA. Growth, feed intake and plasma thyroid hormone levels in chicks fed dietary excesses of essential amino acids. *Poultry Sci* 1998; 77: 295-8.
14. Cengiz O, Kuçukersan S. Effects of graded contents of arginin supplementation on growth performance, haematological parameters and immune system in broilers. *Revue Méd Vét* 2010; 161: 409-17.
15. Choi YH, Ohno N, Okumura J, Furuse M. Effects of peripheral nitric oxide on food intake in the chick. *Jpn Poult Sci* 1996; 33: 286-91.
16. Corzo A, Moran ET, Hoehler D. Arginine need of heavy broiler males: Applying the ideal protein concept. *Poultry Sci* 2003; 82: 402-7.
17. Cuca M, Jensen LS. Arginine requirement of starting broiler chicks. *Poultry Sci* 1990; 69: 1377-82.
18. Curran RD, Billiar TR, Stuehr DJ, Ochoa JB, Harbrecht BG, Flint SG, Simmons RL. Multiple cytokines are required to induce hepatocyte nitric oxide production and inhibit total protein synthesis. *Ann Surg* 1990; 212: 462-71.
19. Dawson TM, Dawson VL, Snyder SH. A novel neuronal messenger molecule in brain: The free radical, nitric oxide. *Ann Neurol* 1992; 32: 297-311.
20. Denbow DM, Meade S, Robertson A, McMurtry JP, Richards M, Ashwell C. Leptin-induced decrease in food intake in chickens. *Physiol Behav* 2000; 69: 359-62.
21. Ensminger ME, Oldfield JE, Heinemann WW. *Feeds and Nutrition*. Second Edition Clovis, California: The Ensminger Publishing Company, 1990.
22. Evoy D, Lieberman MD, Fahey TJ, Daly JM. Immunonutrition: The role of arginine. *Nutrition* 1998; 14: 611-7.
23. Forbes JM. *Voluntary Food Intake and Diet Selection in Farm Animals*. Wallingford. Oxon. OXI-08DE UK: CAB International, 1995; p. 520.
24. Förstermann U, Schmidt HH, Pollock JS, Sheng H, Mitchell JA, Warner TD, Nakane M, Murad F. Isoforms of nitric oxide synthase characterization and purification from different cell types. *Bioc Pharmacol* 1991; 42(10): 1849-57.
25. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 228: 373.
26. Garrel G, Lerront Y, Siriastis C, Berault A, Magre S, Bouchard C, Counis R. Evidence that gonadotropin-releasing hormone stimulates gene expression and levels of active nitric oxide synthase type I in pituitary gonadotrophs, a process altered by desensitization on indirectly by gonadal steroids. *Endocrinology* 1998; 139: 2163-70.
27. Gillespie JS, Liu XR, Martin W. The effects of L-arginine and NG-monomethyl L-arginine on the response of the rat anococcygeus muscle to NANC nerve stimulation. *Br J Pharmacol* 1989; 98(4): 1080-2.
28. Grillo MA, Colombatto S. Arginine revisited: Minireview article. *Amino Acids* 2004; 26: 345-51.
29. Gruetter CA, Barry BK, McNamara DB. Relaxation of bovine coronary artery and activation of coronary arterial guanylate cyclase by nitric oxide, nitroprusside and a carcinogenic nitrosamine. *J Cyclic Nucleotide Res* 1979; 5: 211-44.
30. Huff GR, Huff WE, Balog JM, Rath NC. The effects of dexamethasone immunosuppression on turkey osteomyelitis complex in an experimental *Escherichia coli* respiratory infection. *Poultry Sci* 1998; 77(5): 654-61.
31. Izzo AA, Mascolo N, Capasso F. Nitric oxide as a modulator of intestinal water and electrolyte transport. *Dig Dis Sci* 1998; 43: 1605-20.
32. Janero DR. Nutritional aspects of nitric oxide: human health implications and therapeutic opportunities. *Nutrition* 2001; 17: 896-903.
33. Khan MS, Tachibana T, Hasebe Y, Masuda N, Ueda H. Peripheral or central administration of nitric oxide synthase inhibitor affects feeding behavior in chicks. *Comp Biochem A Mol Integr Physiol* 2007; 148: 458-62.

34. Kidd MT, Peebles ED, Whitmarsh SK, Yeatman JB, Wideman RF. Growth and immunity of broiler chicks as affected by dietary arginine. *Poultry Sci* 2001; 80: 1535-42.
35. Kiechle FL, Malinski T. Nitric oxide biochemistry, pathophysiology and detection. *Clin Chem* 1993; 100: 567-75.
36. Kiriş GA. L-arjinin ve Nöropeptid Y'nin *Oreochromis Niloticus*'da Yem Alımı, Büyüme Performansı, Besin Madde Bileşenleri ve Kan Glikoz Düzeyi Üzerine Etkileri. Doktora Tezi, Çukurova Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana-Türkiye, 2006.
37. Knowles RG. Nitric oxide biochemistry. *Biochem Soc* 1997; 25: 895-901.
38. Knowles RG, Moncada S. Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J* 1994; 298: 249-58.
39. Konashi S, Takahashi K, Akiba Y. Effects of dietary essential amino acid deficiencies on immunological variables in broiler chickens. *Brit J Nutr* 2000; 83: 449-56.
40. Koshland DE. The molecule of the year. *Science* 1992; 258 : 1861.
41. Kwak H, Austic RE, Dietert RR. Influence of dietary arginine concentration on lenfoid organ growth in chickens. *Poultry Sci* 1999; 78: 1536-41.
42. Le Bail PY, Boeuf G. What hormones may regulate food intake in fish? *Aquat Living Resour* 1997; 10(6): 371-9.
43. Lee JE, Austic RE, Naqi SA, Golemboski KA, Dietert RR. Dietary arginine intake alters avian leucocyte population distribution during infectious bronchitis challenge. *Poultry Sci* 2002; 81: 793-8.
44. Lewis JS, Lee JA, Underwood JCE, Harris AL, Lewis CE. Macrophage responses to hypoxia: Relevance to disease mechanisms. *J Leucoc Biol* 1999; 66: 889-900.
45. Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric oxide: A physiologic messenger. *Ann Intern Med* 1994; 120: 227-37.
46. Luzzana U, Hardy RW, Halver JE. Dietary arginine requirement of fingerling coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Aquaculture* 1998; 163: 137-50.
47. Manwar SJ, Moudgal RP, Sastry KVH, Mohan J, Tyagi JS. Effect of nitric oxide modulators on feed intake regulation in Japanese quails. *Indian J Poult Sci* 2002; 37(1): 96-8.
48. Manwar SJ, Moudgal RP, Sastry KVH, Mohan J, Tyagi JBS, Raina R. Role of nitric oxide in ovarian follicular development and egg production in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Theriogenology* 2006; 65(7): 1392-400.
49. McCall TB, Feelisch M, Palmer RMJ, Moncada S. Identification of N-iminoethyl-L-ornithine as an irreversible inhibitor of nitric oxide synthase in phagocytic cells. *Br J Pharmacol* 1991; 102: 234-8.
50. Moncada S, Higgs A. The L-arjinine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993; 10: 521-5.
51. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; 43: 109-42.
52. Morley JE, Flood JF. Evidence that nitric oxide modulates food intake in mice. *Life Sci* 1991; 49: 707-11.
53. Morley JE, Flood JF. Competitive antagonism of nitric oxide synthetase causes weight loss in mice. *Life Sci* 1992; 51: 1285-9.
54. Morley JEE, Alshaher MM, Farr SA, Flood JF, Kumar VB. Leptin and neuropeptide Y (NPY) modulate nitric oxide synthase: further evidence for a role of nitric oxide in feeding. *Peptides* 1999; 20: 595-600.
55. Morris S. Arginine metabolism: Boundaries of our knowledge. *J Nutr* 2007; 137(6): 1602-9.
56. Nathan C, Xie Q. Regulation of biosynthesis of nitric oxide. *J Biol Chem* 1994; 269(19): 13725-8.
57. Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987; 327: 524-6.
58. O'Donnell C, Liew E. Immunological aspects of nitric oxide. *The Biochemist* 1994; 16(5): 19-22.
59. Ralston SH. Nitric oxide and bone: What a gas! *Br J Rheuma* 1997; 36: 831-8.
60. Rand MJ, Li CG. Nitric oxide as a neurotransmitter in peripheral nerves: Nature of transmitter and mechanism of transmission. *Annual Rev Physiol* 1995; 57: 659-81.
61. Sahin K, Onderci M, Sahin N, Balci TA, Gursu MF, Juturu V, Kucuk O. Dietary arginine silicate inositol complex improves bone mineralization in quail. *Poult Sci* 2006; 85: 486-92.
62. Sevimli S, Bulbul A. 17 $\beta$ -estradiol inhibites nitric oxide-cGMP-dependent pathway but may activate independent pathway in small intestine of ovariectomized rat. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2013; 19(6): 949-54.



63. Stuehr DJ. Mammalian nitric oxide synthases. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1411: 217-30.
64. Shah S, Nathan L, Singh R, Fu YS, Chaudhuri G. E2 and not P4 increases NO release from NANC nerves of the gastrointestinal tract: implications in pregnancy. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001; 280(5): 1546-54.
65. SoRelle R. Nobel Prize awarded to scientists for nitric oxide discoveries. *Circulation* 1998; 98: 2365-66.
66. Southern LL, Baker DH. Arginine requirement of the young pig. *J Anim Sci* 1983; 57: 402-12.
67. Squadrito F, Calapai G, Altavilla D, Cucinotta D, Zingarelli B, Campo GM, Acoraci V, Sautebin L, Mazzaglia G, Caputi AP. Food deprivation increases brain nitric oxide synthase and depresses brain serotonin levels in rats. *Neuropharmacology* 1994; 33: 83-6.
68. Squadrito F, Calapai G, Cucinotta D, Altavilla D, Zingarelli B, Ioculano M, Urna G, Sardella A, Campo GM, Caputi AP. Anorectic activity of NG-nitro-L-arginine, an inhibitor of brain nitric oxide synthase, in obese Zucker rats. *Eur J Pharmacol* 1993; 230: 125-8.
69. Wang MY, Koyama K, Shimabukuro M, Newgard CB, Unger RH. OB-Rb gene transfer to leptin-resistant islets reverses diabetogenic phenotype. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 714-8.
70. Weibel DM, Johnson RW, Baker DH. Lipopolysaccharide-induced reductions in body weight gain and feed intake do not reduce the efficiency of arginine utilization for whole-body protein accretion in the chick. *Poultry Sci* 1998; 77: 1893-8.
71. Yagci A, Bulbul A, Sevimli A, Altunbaş K. The role of nitric oxide in the effects of ovarian steroids in the duodenum. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2013; 19(5): 837-42.
72. Yang SJ, Denbow DM. Interaction of leptin and nitric oxide on food intake in broilers and Leghorns. *Physiology & Behavior* 2007; 92: 651-7.
73. Xie Q, Cho HJ, Calaycay J, Mumford RA, Swiderek KM, Lee TD, Ding A, Troso T, Nathan C. Cloning and characterization of inducible nitric oxide synthase from mouse macrophages. *Science* 1992; 256(10): 225-8.

**Yazışma Adresi:**

Yrd. Doç. Dr. Tuba BÜLBÜL

Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim  
Dalı

**e-mail:** tbulbul@aku.edu.tr





## Bir Atta Ateşli Silah Yaralanmasına Bağlı İkinci Falanks Kırığının Tanı ve Sağaltımı\*

Engin KILIÇ, Sadık YAYLA, Celal Şahin ERMUTLU

Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı, Kars-TÜRKİYE

**Özet:** Bu olguda bir atta saptanan ikinci falanks kırığı olgusunun tanı ve sağaltım sonuçlarının bildirilmesi amaçlanmıştır. Topallık şikayetiyle kliniğimize getirilen 6 yaşlı, yerli ırk bir aygırın mera dönüşü topallayarak eve geldiği ve nedene yönelik hasta sahibinin herhangi bir bilgisinin olmadığı öğrenildi. Klinik muayenede atın ön sol ayağını fleksiyon pozisyonunda tutarak sümbük ucuyla yere bastığı, yürürken ise şiddetli topalladığı saptandı. İncelemede ilgili ekstremiteye ait capsula unguiae ve deri düzeyinde herhangi bir lezyon saptanamadı. Ayağın lateromedial ve dorsopalmar pozisyonlarda alınan radyogramlarında ikinci falanksta parçalı kırık ve ikinci falanksın palmar yüzünde de yer yer radyoopakt kontrast veren alanlar tespit edildi. Operasyonla bölge açığa çıkarıldı ve radyogramda yeri belirlenen radyoopasitenin kurşundan kaynaklandığı anlaşıldı. Kurşun parçaları tamamen temizlenerek bölge serum fizyolojikle yıkandıktan sonra deri rutin yöntemle kapatıldı. Yara steril pansumanla korunarak capsula unguiae'yi de içine alacak şekilde topuk bölgesi sentetik alçıyla sarıldı. Postoperatif 3. ayın sonunda topallık şikayetinin tamamen ortadan kalktığı ve 8. aydan itibaren de atın iş gücünden faydalanıldığı öğrenildi. Sonuç olarak, tanı ve sağaltım yaklaşımı yönünden söz konusu olgunun sahada çalışan meslektaşlarımıza yol gösterici olabileceğini düşünmekteyiz.

**Anahtar Kelimeler:** At, ateşli silah yaralanması, ikinci falanks kırığı

### Diagnosis and Treatment of A Fractured Phalanx Media in A Horse Caused by A Gunshot Wound

**Summary:** The purpose of this paper is to present the results of diagnosis and treatment in a case of phalanx media fracture in a horse. It was ascertained from the anamnesis of a six-year-old native stallion brought to our clinic for lameness that the horse had returned from the pasture previously limping. During the clinical examination, it was determined that the horse held his front left foot in the flexion position, and walked on the toe with a severe limp. An inspection revealed no lesion on the skin or capsula unguiae. A segmental fracture then the was will be replaced with were found in the phalanx media in x-rays screened in the lateromedial and dorsopalmar positions. The affected area was surgically opened. It was noted the foreign object located in the radiography was a bullet. The pieces of the bullet were completely removed, and the incision was routinely closed after washing the area with saline. The wound was covered with a sterile dressing and the ankle region was protected by placing it in a synthetic cast. Three months after the operation, the lameness completely disappeared and the horse was able to work 8 months after the operation. In conclusion, we believe that reporting the diagnosis and the treatment of this case will be a useful guide for clinical practice.

**Key Words:** Gunshot wound, horse, phalanx media

### Giriş

Atlarda ikinci falanks (falanks media) birinci falanksa benzemekle birlikte birinci falanksın yarısı uzunluğunda olup dorsal ve yan yüzeyleri tendo ve ligamentlerin yapışması için çıkıntılıdır (7).

Atlarda genel anlamda falanks kırıkları şiddetli çarpmalar, ayak üzerine sert cisimlerin düşmesi, ayağın demir ızgaralara sıkışması, sivri cisim ve ateşli silah yaralanmaları, sert zeminlerde çalıştırılma, ani dönüşler ve beslenme bozukluklarına bağlı olarak oluşmakla birlikte, bunların içerisinde ikinci falanks kırıkları daha nadir görülür (1,3,4,6).

Falanks kırıklarında öne çıkan en belirgin semptomun şiddetli basış topallığı olduğu ve atın sümbük ucunun yere sürtebileceği bildirilmiştir. Şiddetli ağrıdan dolayı

at terleyebilir ve lokal olarak topuk üzerinde ısı ve nabız artışı hissedilebilir. Topuk bölgesinde şişkinlikle birlikte palpasyonda da duyarlılık saptanabilir. Klinik muayenede çoğu kez kırık ile çatlağı birbirinden ayırmak zordur. Semptomların şekli ve şiddeti hemen hemen aynı olduğundan ayırıcı tanı için radyografi şarttır. Ayrıca adli durumların aydınlığa kavuşturulması için de radyografiye gereksinim duyulmaktadır (1,3,4,6). Dolayısıyla sağaltım doğru tanı ve olgunun ciddiyetine göre farklı şekillerde planlanabilir (1-6,8). Bu olguda; bir atta ateşli silah yaralanması sonucu, ikinci falanksta meydana gelen parçalı kırık olgusunun tanı ve sağaltım sonuçlarının sunulması amaçlanmıştır.

### Olgu

Şiddetli topallık şikayetiyle kliniğimize getirilen 6 yaşlı, yerli ırk bir aygırın anamnez bilgilerinden atın üç gün önce mera dönüşü topallayarak eve geldiği ve nedene yönelik hasta sahibinin herhangi bir bilgisinin olmadığı öğrenildi. Klinik muayenede atın ön sol ayağını fleksiyon pozisyonunda tutarak

Geliş Tarihi / Submission Date : 29.04.2013

Kabul Tarihi / Accepted Date : 08.07.2013

\*XIII. Ulusal Veteriner Cerrahi Kongresi'nde (Uluslararası Katılımlı) (27 Haziran - 1 Temmuz 2012, Sarıkamış/Kars, Türkiye) poster olarak sunulmuştur.

sümbük ucuyla yere bastığı, yürürken ise şiddetli bir basış topallığı saptandı. İncelemede ilgili ekstremiteye ait capsula unguiae ve deri düzeyinde herhangi bir lezyon belirlenemedi. Tırnak muayene pensiyile yapılan palpasyonda da capsula unguiaeda duyarlı alan saptanamadı. Elle yapılan palpasyonda falanks düzeyinde aşırı duyarlılık saptanırken, ikinci falanksın palmar yüzünde deri düzeyinde 0.3-0.5 cm çapında kanamasız bir defekt tespit edildi. Ayağın latero-medial ve dorso-palmar pozisyonlarda alınan radyogramlarında ikinci falanksta parçalı kırık saptandı (Şekil 1). Articulatio interphalangea distalis düzeyinde radyoopasite veren bir adet yabancı cisim belirlenirken, ikinci falanksın palmar yüzünde de yer yer kontrast veren alanlar tespit edilmesi üzerine operasyona karar verildi. Operasyon genel anestezi altında (0.02 mg/kg detomidin HCl + 2.2 mg /kg ketamin HCl intravenöz) gerçekleştirildi. Bölgenin traş ve dezenfeksiyonu takiben önce corium coronariumun 1.5 cm proksimalinde sirküler bir deri ensizyonu yapıldı. Daha sonra topuğun arka yüzüne yapılan longitudinal deri ensizyonu birinci ensizyonla birleştirilerek bölge açığa çıkarıldı. Topuk bölgesini oluşturan yumuşak dokular özenle diseke edilerek art. interphalangea distalis düzeyinde saptanan tüm kurşun parçaları uzaklaştırıldı (Şekil 2). Bölge tamamen temizlenerek serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra deri rutin yöntemle kapatıldı. Topuk bölgesi steril pansumanla korunarak capsula unguiaeyi da içine alacak şekilde ayağa sentetik alçıyla (Betacast®10cmx3.6m, Türkiye) pencereci bir bandaj uygulandı (Şekil 3). Bandaj postoperatif bir ay sonra değiştirildi ve 2. ay sonunda tamamen uzaklaştırıldı. Postoperatif 3 ay sonra topallık şikayetinin tamamen ortadan kalktığı ve 8. aydan itibaren de atın iş gücünden faydalandığı öğrenildi.

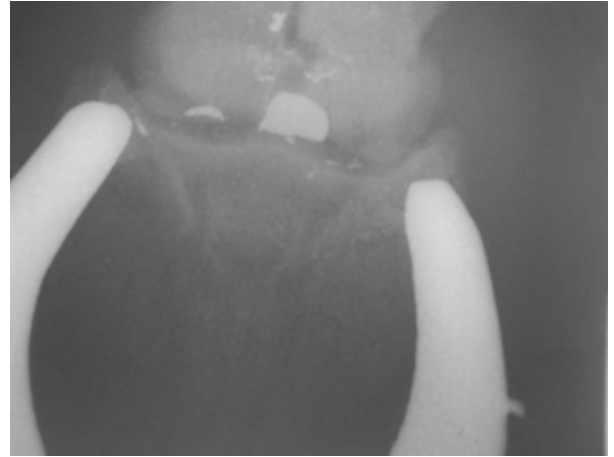
### Tartışma ve Sonuç

Çoğunlukla direkt ve endirekt travmalara bağlı olarak gelişen falanks kırıkları içerisinde ikinci falanks kırıklarına nispeten daha az rastlanmaktadır. Söz konusu falanksın daha kısa olmasının yanında çevre dokularca özellikle dorsal ve yan yüzeylerden sıkıca korunmasının da bunda etkili olduğu söylenebilir. Ancak ayak üzerine isabet eden yabancı cismin momentumunun yüksek olması gibi kemiğin direncini aşan etkilere bağlı olarak ikinci falanksta da kırık ya da çatlak şekillenebilir (2,5). Bu etkenlerden biri de ateşli silah yaralanmaları olup bunların yaratacağı etki ateşli silah mermisinin tipine, ateş edilen mesafeye, yönüne ve açısına göre değişir (1). Sunulan olguda klinik olarak şiddetli topallık görülmesine rağmen inspeksiyonda ekstremitenin distalinde gözle görülür herhangi bir anormallite saptanamamıştır. Ancak topuk bölgesi özenle muayene edildiğinde 0.3-0.5 cm çapında kanamasız bir defekt saptanmıştır. Radyogramda II. falanksda saptanan parçalı kırığın

birçok nedene bağlı olarak meydana gelebileceği göz önüne alınırsa art. interphalangea distalis'te saptanan kurşunun olaya ayrı bir boyut kazandırdığı söylenebilir. Dolayısıyla asıl oluşturunun belirlenmesinin tanı ve sağaltımda olduğu kadar benzer olguların adli yönden aydınlatılabilmesinde de meslek pratiği açısından özel bir yerinin olduğu söylenebilir.

Atlarda ikinci falanks kırıklarında alçılı bandaj, plaka ve vida uygulamaları veya eksternal fiksasyon uygulamalarının yapılabileceği önerilmekle birlikte bu yöntemlerin endike olmadığı durumlarda artrodezinde göz önünde bulundurulabileceği ileri sürülmektedir (2,3,5,6,8). Söz konusu olguda kırığın şekli göz önünde bulundurularak sağaltım amacıyla sentetik alçılı bandajın yeterli olabileceğine karar verildi. Literatürlerde de önerildiği gibi iki aylık bir süre ile uygulanan desteğin arzu edilen iyileşmeye yettiği anlaşıldı. Nitekim postoperatif üçüncü aydan itibaren topallık şikayetinin tamamen ortadan kalktığı ve 8. aydan sonra atın iş gücünden faydalandığı öğrenildi. Sonuç olarak, tanı ve sağaltım yaklaşımı yönünden klinik pratikte yol gösterici nitelikte değerlendirildiğinden söz konusu olgunun sunulmasının sahada çalışan meslektaşlarımıza faydalı olabileceğini düşünmekteyiz.

**Şekil 1.** İkinci Falanksta kırık ve kurşun



**Şekil 2.** Kurşun parçalarının uzaklaştırılması



**Şekil 3.** Sentetik alçılı bandaj ile koruma



**Kaynaklar**

1. Beyaztaş FY, Can M, Bütün C. Ateşli Silah Yaralanmaları.
2. [http://www.klinikgelisim.org.tr/eskisayi/klinik\\_2009\\_22/06.pdf](http://www.klinikgelisim.org.tr/eskisayi/klinik_2009_22/06.pdf); Erişim Tarihi: 17.05.2012.
3. Bukowiecki CF, Bramlage LR. Treatment of a comminuted middle phalangeal fracture in a horse by use of a broad dynamic compression plate. J Am Vet Med Assoc. 1989; 194 (12): 1731-4.
4. Gore T, Gore P, Giffin JM. The musculoskeletal system. Adelman B. Ed. In: Horse Owner's Veterinary Handbook. Third Edition, Wiley Publishing, New Jersey: 2008; p. 230-85.
5. Jones E, Phillips TJ. Lameness and Orthopaedic Nursing, Coumbe KM. Ed, in The Equine Veterinary Nursing Manual, Blackwell Publishing, Oxford, 2001; p. 298-322.
6. Ruggles AJ. Equine fractures in the new decade; what can we repair?
7. <http://www.acvs.org/Symposium/Proceedings2011/data/papers/024.pdf>. Erişim Tarihi: 23.05.2012.
8. Yavru N, Özkan K, Elma E. Ayak hastalıkları ve ortopedi. SÜ. Vet. Fak., Konya, Basım Ofset Matbaası, Ankara.1989. s. 184.
9. Yücel R. Atların ortopedik hastalıkları, Aktif Yayıncılık, İstanbul 2007, s. 129-30.
10. Zubrod CZ, Schneider RK. Arthrodesis Techniques in Horses. Vet Clin Equine, 2005; 21: 691-711.

**Yazışma Adresi:**

Yrd. Doç. Dr. Sadık YAYLA  
Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Cerrahi Anabilim Dalı  
Paşaçayırı/Kars-TÜRKİYE  
Tel: 0 474 242 68 07 / 5206  
E-posta: sadikyayla@gmail.com



## YAZIM KURALLARI

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. Bütün yazılar yayın kurulunun ve danışma kurulunun onayından geçtikten sonra yayımlanır.
3. Dergide yayımlanacak yazı ve makaleler için resmi dil Türkçe'dir. İngilizce yazılmış yazılar da yayımlanabilir. Yazıların başında Türkçe ve İngilizce özetinin verilmesi gerekir.
4. Yazılar, [ercvet@gmail.com](mailto:ercvet@gmail.com) adresine gönderilmelidir. Yazışmalar için, makale sonunda ayrı bir sayfada, yazar adı, unvanı yazılıp, haberleşme adresi, telefon, fax numarası ve varsa e-mail adresi yazılmalıdır.
5. Yazılar A4 tipi kağıtta, çift aralık, Arial ve 10 punto olarak yazılmalıdır. Her kenardan 3 cm boşluk bırakılarak, sayfaların sağ altına numara verilmelidir. Resim ve şekiller dahil orijinal makaleler 12, derlemeler 15, olgu sunumları, araştırma notu ve kısa bildiriler 6 sayfayı geçmemelidir.
6. Daha önce kongrelerde tebliğ edilmiş ve özeti yayımlanmış çalışmalar, bu özelliği belirtilmek üzere kabul edilebilir. Araştırma herhangi bir kuruluş tarafından destek görmüşse makalenin başlığının son kelimesi üzerine yıldız(\*) konularak aynı sayfada dipnot olarak belirtilir.
7. Yazılar gönderilirken son kontrol listesi izlenecek ve yayın hakkının devri sözleşmesi tüm yazarlarca isim sırasına göre imzalanacaktır.
8. Etik kurul onayı gerektiren çalışmalarda kurulun onayı alınmış ise belirtilmelidir.
9. Makale; Özet [Türkçe ve İngilizce (Summary)] - Anahtar Kelimeler - Giriş - Gereç ve Yöntem - Bulgular - Tartışma ve Sonuç-Teşekkür-Kaynaklar- Tablo ve Şekiller bölümlerini içerecek şekilde düzenlenmelidir. Tablo ve şekil başlıklarının yalnızca ilk harfleri büyük olmalı ve metin içindeki tüm başlıklar koyu yazılmalıdır. Metin içinde paragraf girintisi yapılmamalı, devamlı satır numarası verilmelidir.
10. Kapak sayfasında sadece 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, unvansız) verilmelidir.
11. Türkçe ve İngilizce özetler başlık sayfasından sonraki sayfaya (2. sayfaya) yazılmalıdır. Türkçe Özet: Özet metni, makale başlığı (kelime baş harfleri büyük, diğer harfler küçük olacak şekilde) yazıldıktan sonra başlığın altında en fazla 200 kelime olmalıdır. Paragraf yapılmamalıdır. İngilizce Özet (Summary): İngilizce makale başlığı (kelime baş harfleri büyük, diğer harfler küçük olacak şekilde) altında yer almalıdır. Paragraf yapılmamalıdır. Anahtar Kelimeler: Türkçe ve İngilizce olarak özetlerin altına, alfabetik sıra ile ilk kelimenin baş harfi büyük, diğerleri küçük harfle (özel isimler baş harfi büyük) en fazla 5 kelime olarak yazılmalıdır. Anahtar kelimelerin Türkiye Bilim Terimleri'nden seçilmesine özen gösterilmelidir.
12. Kısaltmalar ilk kez kullanıldığında açık olarak yazılmalı daha sonra makale içinde hep aynı kısaltma kullanılmalıdır.
13. Yazının içinde tablo veya şeklin gelmesi istenen yere "Tablo 1 (Şekil 1) buraya gelmeli" yazısı altına ve üstüne çizgi konularak yerleştirilmelidir. "Tablo" yazısı tablonun üstüne, "Şekil" yazısı ise şeklin altına ve sola dayalı yazılmalıdır. Grafik veya fotoğraf başlıkları Şekil 1., Şekil 2. şeklinde numaralandırılmalıdır. Her bir tablo ve şekil ayrı sayfada olmalıdır. Resim, grafik ve çizgiler iyi kalite kuşe kağıda yazılmış ya da basılmış olmalıdır. Resim, grafik ve çizimlerin arkasına bir ok işareti ile üst kısmı, sıra numarası ve makalenin adı mutlaka belirtilmelidir. Eğer bunlar bilgisayarda yapılmışsa CD'ye orijinal programında ayrıca kaydedilmelidir. Kullanılan resimlerin renkli olması halinde ücret talep edilecektir. Her resim, grafik ve çizim; şekil olarak kabul edilip (Şekil 1, Şekil 2, gibi) yazılmalıdır. Tablodaki geçen kısaltmalar tablo altında belirtilmelidir. Tablolarda iç ve yan kılavuz çizgiler görünmemelidir.
14. Yazı içinde belirtilen tüm kaynaklar "Kaynaklar" listesinde yer almalıdır. Kaynaklar yazılırken alfabetik sıraya konulmalı, noktalama işaretlerine örneklerde gösterildiği şekilde dikkat edilmeli ve yazı içinde her kaynağa ait numara ile ilgili olan cümlelerin sonunda parantez içinde mutlaka belirtilmelidir. Dergi kısaltmaları Index Veterinarius ile uyum içerisinde olmalıdır.
15. Yazı içinde geçen tür isimleri Latince ifadeler italik karakterle yazılmalıdır. Tüm ölçü birimleri SI (Systeme Internationale)'e göre verilmelidir.
16. Fotoğrafların siyah-beyaz olması daha uygundur. Fotoğrafların fotokopisi kabul edilmemektedir. Renkli fotoğraf veya grafik basılabilmesi için renk ayırımı yapılmış filmlerin yazarlar tarafından temin edilmesi ve yazı ile birlikte gönderilmesi gerekmektedir.
17. Derlemeler, orijinal olması ve en son yenilikleri içermesi duru- munda yayınlanmak üzere kabul edilebilecektir. Derlemeler; araştırma makalelerindeki gibi başlık, özetlerden sonra anahtar kelimeler, giriş, konunun kendine ait başlıkları, sonuç ve kaynaklar başlıklarından oluşmalıdır.
18. Olgu Sunumları, Türkçe Özet - Anahtar Kelimeler - İngilizce Özet (Summary) - İngilizce Anahtar Kelimeler (Key Words) - Giriş - Olgu(lar) - Tartışma ve Sonuç - Kaynaklar bölümlerini içermelidir.
19. Kaynaklar
- 19.1. Kaynak süreli yayın ise;  
Örnek: Kaldhane P, Nayak R, Lynne AM, Dvaid 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. Kaynak editörlü kitaptan bir bölüm ise;  
Örnek: 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. 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, Herramafl 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. Tezler;  
Örnek: Erakıncı G. Donörlerde Parazitlere Karşı Oluşan Antikorların Aranması. Doktora Tezi. Ege Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Parazitoloji Programı. İzmir-Türkiye, 1993.
- 19.7. Kaynak internette bulunan bir web sitesi ise, yazarların soyadları ve adının ilk harfi (yazar adı yoksa web sitesinin veya kaynağının adı) yazılır. Daha sonra sırasıyla yılı, makalenin adı, varsa yayıncı, internet adresi ve erişim tarihi belirtilir. Kaynak olarak web siteleri kullanılacak ise sınırlı sayıda olmasına ve resmi web sitelerinin kullanılmasına özen gösterilmelidir;  
Örnek: TÜİK. Hayvancılık İstatistikleri. <http://www.tuik.gov.tr/hayvancilikapp/hayvancilik.zul>;  
Erişim tarihi: 14.03.2010
20. Eserler dergide yayımlandıktan sonra, bütün sorumluluk sahiplerine aittir.

## Instructions to Authors

1. The Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University publishes original papers, short communications, case reports, letter to editor and original review articles related to the field of Veterinary Medicine.
2. Editorial board and advisory committee must prove all manuscripts before considered publication.
3. Formal language of manuscripts is Turkish. However, manuscripts in English, German, and French are also accepted. And the beginning of the manuscript must contain the Turkish and English summaries.
4. Original manuscripts must be typed in Word program and e-mail to [ercvet@gmail.com](mailto:ercvet@gmail.com).  
Manuscript must contain a separate page (as a last page of the manuscript) including the corresponding author's name, his/her title, communication address, phone number, fax number, and e-mail address.
5. Original papers and reviews should normally not exceed 12 and 15 pages respectively. Case reports, research notes and short communications also should not exceed 6 pages including tables and figures. Manuscripts must be printed A4 papers. Font size must be 10 pt (Arial) and legible. Manuscripts must be type written with double spacing and wide margins (3cm each side). All pages must be numbered consecutively.
6. Studies were partially presented in a national or international meeting or published as an abstract in any journal can be published with indication of this status at the bottom of the page (footnote). In the same page, information should be included on any institutions or individuals who financially contributed to the work. This information must be showed in the running title of the manuscript as an asterisk also seen at the bottom of the page (footnote).
7. Copyright Release form must be filled and signed by all authors. Final checklist should also be followed.
8. The manuscript must be submitted with Animal Care and Use Committee report if the work requires.
9. Manuscript must be organized as follows: Summary (Turkish and English), Key Words, Introduction, Material and Methods, Results and Discussion, Acknowledgements, References, Tables, Figures, Charts, Graphs and Photographs and their explanations. All titles of sections must start with capital letter and be bold. Paragraphs in the text should not indented, but lines should be numbered.
10. The cover page should be supplied as a separate page and include: running title, max 40 characters in English with the first letters capital, the name(s) of the author(s) without titles, affiliations and complete postal address of all author(s). Superscript numbers should be given to the surnames of authors as affiliation information.
11. The title page must contain the Turkish and English summaries (up to 200 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. Only the first Key Word must start with a capital letter.
12. Abbreviations should be defined when first used and be consistent throughout the text.
13. Names of tables and figures must be given in a separate page. Through the manuscript, tables and figures must be replaced a proper place and contain descriptive information related to the table or figure. Descriptive information must be placed above the tables but below the figures in the text with any explanations or footnotes below. Title of figure and photographs must be numbered in order as figure 1, figure 2 or so. Each page must contain no more than one figure or table. Figures must be suitable for high quality print. Line drawings should be printed by laser or inkjet printer. Lines in tables should be hidden.
14. All cited works in the text must be present in literature section. References must be assembled alphabetically. In the text, they should be referred with numbers. Places must be indicated within the text. Periodicals, books, multi author books, chapter of a book and other references must be given as follows: Journal titles should be abbreviated according to the Index Veterinarius.
15. Species names in Latin should be italicized. All measurement specifications must follow the SI (Système Internationale) units.
16. Photographs must be of good quality, black and white and printed on glossy paper. Photocopies of photographs are not acceptable. Color photographs are accepted but the contributor must meet money charge. Also, if color photographs are desired or necessary all needed material must be provided. Photographs should be clearly marked on the reverse side with the number, author's name and orientation (top), use a soft pencil.
17. Review articles are considered for publications if they are original and contain recent developments. Reviews contain title as in research manuscripts, summary, introduction, subtitles appropriate for the review, result and literature cited. Key Words are also added.
18. Case reports must contain Summary, Key Words, Introduction, Case(s), Results and Discussion, and Literature cited.
19. Literature;
  - 19.1. If the source is a periodical, citation must be done as shown below  
example: Kaldhone P, Nayak R, Lynne AM, Dvaid 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 source 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 source 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 source 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 source 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 source 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 source is a website on the internet, the initials of the authors' surnames and names (if there is no name of author the name of the website or of the source) are written. Then the years and title of the article, Publisher (if any), internet address and arrival date are specified in this order.  
If websites are to be used as source, care must be taken to keep it limited and the website to be official.  
Example: TUIK. Hayvancılık İstatistikleri. <http://www.tuik.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.



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

Makale Türü/ Article Type:

- (...) Araştırma / Research (..) Derleme / Review (..) Kısa Bilimsel Çalışma / Short Communication  
(..) Olgu Sunumu / Case Report (..) Editöre Mektup / Letter to Editor

Makale Başlığı / Article Entitled:.....  
.....  
.....

Sayın Editör,

Yayınlanmasını 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://ercivet.erciyes.edu.tr> 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 3 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://ercivet.erciyes.edu.tr>).
- Entire paper has been 5 mm double-spaced (abstract, tables, captions/legends, references).
- Margins have been 3 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.



