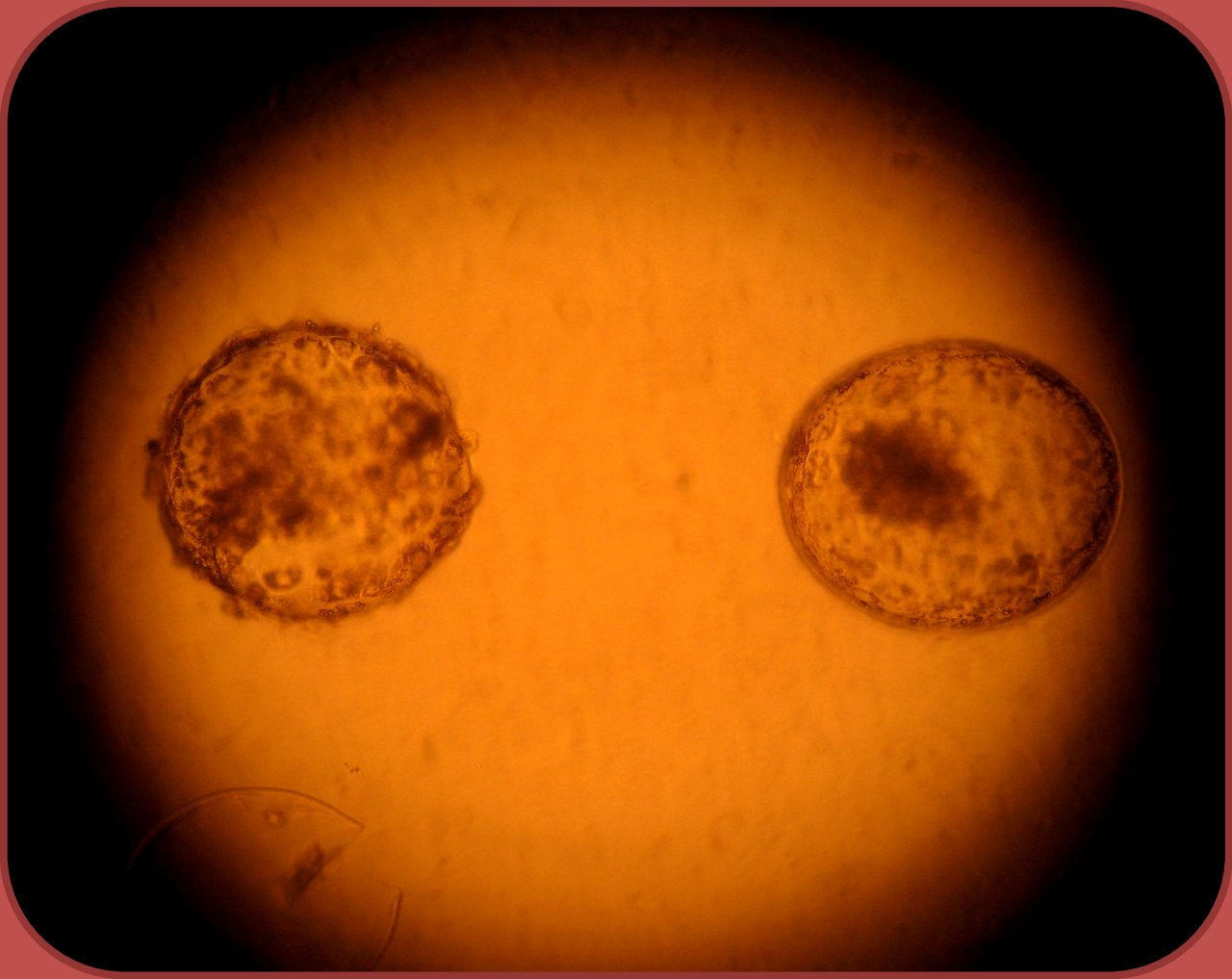




HAYVANCILIK ARAŞTIRMA DERGİSİ

Journal of
Animal Research

CİLT: 16 **SAYI:** 1 **YIL:** 2006 **ISSN:** 1300 – 2031



Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü
Konya / TÜRKİYE



TEKNİK KİMYA

TEKNİK ORTOPEDI Tıbbi Cih.
Gıda ve Kimya San. Tic. Ltd. Şti.

Şeref Şirin Mah. Akıfpaşa Sokak
Çeşmeli Çarşısı No. P/36 KONYA
Tel. : 0.332 350 18 43-350 42 52
Fax : 0.332. 353 84 88



LEİCA MİKROSKOPİ SİSTEMLERİ

1-İŞIK MİKROSKOPLARI

- Biyolojik Mikroskoplar
- Eğitim Mikroskopları
- İnvert Mikroskoplar

2-STEREO MİKROSKOPLAR



HAYVANCILIK ARAŞTIRMA

D E R G İ S İ

JOURNAL of ANIMAL RESEARCH
KONYA – TÜRKİYE

CİLT (Volume): 16, SAYI (Number): 1, YIL (Year): 2006, ISSN: 1300–2031

Tarım ve Köyişleri Bakanlığı
Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü adına

SAHİBİ (Owner)

Yüksel KAYA

(Enstitü Müdürü / Director)

EDİTÖR

(Editor in Chief)

Prof. Dr. Tevfik TEKELİ

YAYINKOORDİNATÖRÜ

(General Coordinator)

Erkan ULUDAĞ

YAYINKURULU (Editorial Board)

Dr. Ahmet Hamdi AKTAŞ

Dr. Eyüp BAŞER

Dr. Bülent BÜLBÜL

Mehmet KÖSE

BUSAYININ YAYINDANIŞMANLARI (Advisory Board) ()*

Prof.Dr. Melih AKSOY

Selçuk Üniv.

Doç.Dr. Mehmet GÜLER

Selçuk Üniv.

Prof.Dr. Erol ALAÇAM

Ankara Üniv.

Yrd.Doç.Dr. Aydın GÜZELOĞLU

Selçuk Üniv.

Prof.Dr. İlhami ÇELİK

Selçuk Üniv.

Prof.Dr. İsmail KIRŞAN

İstanbul Üniv.

Doç.Dr. Hüseyin ERDEM

Selçuk Üniv.

** İsimler alfabetik sıraya göre dizilmiştir.*

DİZGİ–GRAFİK– BASKI (TYPSETTING –GRAPHIC – PRESS)

Dizgi (Typesetting): Erkan ULUDAĞ (BDUTAE Ekonomi İst. ve Yayım Böl.)

Grafik (Graphic): Erkan ULUDAĞ–Dr. Bülent BÜLBÜL

Baskı (Press): DİZGİ Ofset Telefon (Phone): +90–(332)–3420005–3420742

Basım Tarihi (Publication Date): Nisan (April) 2009

Yazışma Adresi (Address): Bahri Dağdaş Uluslararası Tar. Arş. Enst., P.K. 125 42020 KONYA

İnternet Sayfası (Web): www.bahridagdas.gov.tr

E-Posta (E-mail): hayarsderg@gmail.com

Telefon (Phone): 0332 355 1290 /116, Telefaks (Tele-fax): 0332 355 1288

KAPAK RESMİ: Sığır Embriyosu, **FOTOĞRAF:** Bülent BÜLBÜL

HAYVANCILIK ARAŞTIRMA

D E R G İ S İ

CİLT (Volume): 16,

SAYI (Number): 1,

YIL (Year): 2006,

ISSN: 1300-2031

- | | |
|---|----|
| <p>M. KÖSE, Ő. DURSUN, B. BÜLBÜL, M. KIRBAŐ -İsviçre esmeri ineklerde fsh ile süperovulasyon ve embriyo transferi çalışmaları</p> <p>Superovulation and fresh embryo transfer studies with fsh in Brown Swiss cows</p> | 1 |
| <p>H. A. ÇELİK, A. BÜLBÜL, G. AVCI, İ. AYDIN, İ. KÜÇÜKKURT - İneklerde seksüel siklusun çeşitli evrelerinde dominant ve sekonder follikül sıvılarında oksidan-antioksidan dengenin belirlenmesi</p> <p>Determination of oxidant-antioxidant balance in dominant and secondary follicular fluids at various stages of estrous cycle in cows.</p> | 7 |
| <p>H. ERDEM, M. K. SARIBAY, T. TEKELİ - Aşım sezonunda östrüsleri senkronize edilen Konya Merinosu koyunlarda embriyonik ölümlerin real-time ultrason ile belirlenmesi</p> <p>Determination of the Incidence of embryonic mortality with real-time ultrasound in synchronized Konya Merino ewes in the breeding season</p> | 14 |
| <p>M. KÖSE, T. TEKELİ - İneklerde sıcaklık stresinin döl verimine olumsuz etkileri ve bu etkileri azaltmak için uygulanan bazı yöntemler</p> <p>The negative effects of heat stress on reproduction in cows and some methods to decrease these effects (A review)</p> | 19 |
| <p>O. YILMAZ, M. UÇAR - Kök hücre çalışmaları ve terapötik klonlama</p> <p>Stem cell researches and therapeutic cloning (A review)</p> | 26 |

İSVİÇRE ESMERİ İNEKLERDE FSH ile SÜPEROVULASYON ve EMBRİYO TRANSFERİ ÇALIŞMALARI

Mehmet KÖSE^{1*} Şükrü DURSUN¹ Bülent BÜLBÜL¹ Mesut KIRBAŞ¹

Superovulation and fresh embryo transfer studies with fsh in Brown Swiss cows

SUMMARY

In this study, the results obtained from 13 superstimulations and 34 fresh embryo transfers in 5 Brown Swiss cows in a definite time in 2005-2006 in our institute were summarized. Donors were superstimulated with i.m. FSH injections (total 400) beginning from day 10 to 13 after determined oestrus, using twice daily injections with decreasing doses (4:4:3:3:2:2:1:1) at an a.m.-p.m. rule per day for 4 d. An i.m. injection of 0,150 mg cloprostenol was administered at the time of the 5th FSH injection. Donors were artificially inseminated twice 12 and 24 h after the onset of the oestrus. Embryos were recovered with a standard uterus flushing and ova/embryos were evaluated 6.5-7 d after the first insemination. The mean numbers of corpus luteum, total ova/embryos, grade 1, 2, and 3, transferable and degenerated embryos and unfertilized ova were 11.54±1.63, 8.54±1.69, 3.23±1.18, 1.69±0.47, 0.92±0.42, 5.85±1.48, 1.39±0.53 and 1.23±0.68, respectively. Thirty-four of the transferable embryos were transferred to recipients non-surgically into the uterine horn ipsilateral to the CL. Pregnancy rates in total, heifers and cows were 47.1%, 27.2% and 56.5%, respectively. In conclusion, recovery rate, mean number of viable embryos and pregnancy rate were found in acceptable levels for fresh embryo transfer after FSH superstimulation in Brown Swiss cows.

KEY WORDS: Superovulation, FSH, embryo, cattle

ÖZET

Bu çalışmada, 5 baş İsviçre Esmeri inek üzerinde 2005-2006 yıllarında Enstitümüzde yapılan çalışmaların bir bölümünü oluşturan 13 süperovulasyon ve 34 taze embriyo transferi çalışmasından elde edilen sonuçlar özetlendi. Donörlere süperovulasyon amacıyla referans östrüs sonrası siklusün 10. gününden başlayarak 4 gün süreyle 12 saat aralıklarla azalan dozlarda (4:4:3:3:2:2:1:1) FSH (toplam 400 mg) kas içi uygulandı. Beşinci FSH uygulamasıyla birlikte kas içi yolla 0.150 mg cloprostenol enjekte edildi. Donörler östrüs başlangıcından sonraki 12 ve 24. saatlerde tohumlandı. Embriyolar ilk tohumlama sonrası 6.5-7. günde standart uterus yıkama prosedürüyle toplandı ve gelişim evreleri ve kaliteleri değerlendirildi. Ortalama korpus luteum, ovum/embriyo, kalite 1, 2 ve 3, transfer edilebilir ve dejenere embriyo ve fertilize olmamış ovum sayıları sırasıyla 11.54±1.63, 8.54±1.69, 3.23±1.18, 1.69±0.47, 0.92±0.42, 5.85±1.48, 1.39±0.53 ve 1.23±0.68 olarak tespit edildi. 34 adet embriyo, uygun taşıyıcılara transfer edildi. Transfer sırasında embriyolar, korpus luteumun bulunduğu taraftaki cornu uterinumun üst 1/3'üne bırakıldı. Düve ve ineklerdeki transfer sonrası gebelik oranları sırasıyla %47.1, %27.2 ve %56.5 olarak tespit edildi. Sonuç olarak, İsviçre Esmeri ineklerde ovum/embriyo kazanım oranı, transfer edilebilir embriyo sayısı ve gebelik oranının FSH ile süperstimülasyon sonrası taze embriyo transferi için kabul edilebilir düzeyde olduğu kanısına varıldı.

ANAHTAR KELİMELER: Süperovulasyon, FSH, embriyo, sığır

GİRİŞ

Sığırlarda generasyon aralığı diğer türlere göre daha uzun ve döl verimi düşüktür. Bu nedenle embriyo transferi, genetik ilerlemeyi ve değerli damızlıkların sayısını kısa sürede arttırmak için uygun bir tekniktir (Seidel 1991). Embriyo transferi, Willet ve ark. tarafından 1951 yılında sığırlarda gerçekleştirilen ilk başarılı transfer sonrası, hızlı bir gelişme göstermiş ve ticari amaçlar doğrultusunda

sahaya aktarılmıştır (Akyol ve ark. 2004). Betteridge (2006), Dünya'da 2003 yılında yarım milyondan (584.762) fazla sığır embriyosunun transfer edildiğini bildirmektedir. Ülkemizde de farklı zamanlarda sığırlarda embriyo transferi çalışmaları yapılmış ancak sahaya aktarılamamıştır.

Ülkemizdeki kültür ırkı sığır varlığı hayvan ithalatı yolu ile arttırılmaya çalışıldığında, adaptasyon gücünün nedeniyle döl verimi ile ilgili olarak önemli sorunlar ortaya çıkmaktadır (Tekeli ve ark. 1998).

1:Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Konya, Türkiye

*E-posta: mehmetkose1977@gmail.com

Sonuç olarak, kültür ırkı sığır varlığımızın kısa sürede artırılmasına katkıda bulunacak embriyo transferinin rutin olarak uygulanabilir olması için, bu alandaki çalışmaların planlı ve uzun süreli olması gereklidir.

Sığırlarda süperovulasyon amacıyla Follikül uyarıcı hormon (FSH), Gebe kısırak serum gonadotropini (PMSG), İnsan menopozal gonadotropini (hMG) ve At hipofizer gonadotropini kullanılabilir. Bununla birlikte, süperovulasyon cevabı açısından en iyi sonuç FSH uygulamalarından alındığından dolayı, en yaygın olarak da bu hormon kullanılmaktadır (Tekeli 1997, Akyol 2001).

Bu çalışma ile Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü bünyesinde, belirli bir dönemde FSH ile yapılan süperovulasyon ve taze embriyo transferi çalışmaları değerlendirildi.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Bu çalışma, Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü'ndeki İsviçre Esmeri inek ve düvelerde gerçekleştirildi. Çalışmada donör olarak 4-6 yaşlı 5 baş İsviçre Esmeri inek ve taşıyıcı olarak ise östrüsleri senkronize edilmiş 2-6 yaşlı 34 baş İsviçre Esmeri inek ve düveler kullanıldı. Hayvanlar sağlıklı, reproduktif sorunu olmayan ve düzenli siklik aktivite gösteren inek ve düvelerden seçildi. Bütün hayvanların rutin olarak *Brucellosis*, *Vibriosis*, *Leptospirosis*, *Mavi Dil*, *Tuberculosis*, *İnfeksiyöz Bovine Löykosis*, *İnfeksiyon Bovine Püstüler Vulvavaginitis* hastalıkları yönünden taranmaları yapıldı.

Metot

Çalışmaya alınan 5 baş ineğe 13 süperovulasyon protokolü uygulandı. Süperovulasyon amacıyla, donörlere östrüs siklusunun 10. gününden başlayarak 4 gün süreyle, 12 saat aralıklarla azalan dozlarda (4:4,3:3,2:2,1:1) FSH (Folltropin-V, toplam 400 mg NIH-FSH-P1, Bioniche Animal Health Inc., Ontario, CANADA) kas içine enjekte edildi. Siklüs korpus luteumunu lize etmek amacıyla 5. FSH uygulaması ile birlikte 150 µg D-Cloprostenol (Dalmazin, Vetaş, İstanbul, Türkiye) kas içi enjekte edildi. D-Cloprostenol uygulamasından 12 saat sonra başlayan günde 3 kere 20 dakika süreyle yapılan gözlemlerle donörlerin östrüsleri tespit edildi. Östrüsü tespit edilen donörler östrüs tespitinden 12 ve 24 saat sonra 0,5 ml'lik sperma payetleri ile iki kez tohumlandı.

Embriyolar ilk tohumlamayı takiben 6,5-7. günde uterus yıkaması (flush) ile toplandı. Yıkama solüsyonu olarak %1 buzağı serumu (N-4267, Sigma) ve %0.1 kanamisin sülfat (Kanovet, Vetaş, İstanbul, Türkiye) içeren 1000 ml'lik laktatlı ringer (Ringesol®, Vilsan, Ankara, Türkiye) kullanıldı. Uterus

yıkaması sırasında bağırsak peristaltliğini önlemek için 5-7 ml vilcain (Vilcain®, Vilsan, Ankara, Türkiye) solüsyonu kullanılarak üst epidural anestezi uygulandı. Uterus yıkamasında çift yollu foley kateteri kullanıldı. Kateterin balonu uterus bifurkasyonundan yaklaşık 5 cm ileride 15-20 ml hava ile şişirilerek sabitlendi. Her uterus cornusu için her seferinde 50-100 ml olacak şekilde ve yaklaşık 8-10 seferde 500 ml yıkama solüsyonu kullanılarak uterus yıkaması gerçekleştirildi.

Uterus yıkantısı filtreden geçirildi ve yıkantı petri kutularına konularak stereo-mikroskop altında embriyo taraması yapıldı. Toplanan embriyolar %20 buzağı serumu + %0.4 sığır serum albümini içeren Phosphate Buffer Solution (PBS) solüsyonuna aktarıldı. Embriyolar PBS solüsyonunda en az üç kez yıkandıktan sonra International Embryo Transfer Society (IETS) kriterlerine göre kaliteleri ve gelişme evreleri belirlendi (Wright 1998). Kalite 1, 2 ve 3 embriyolar transfer edilebilir embriyo olarak tanımlandı. Herhangi bölünme belirtisi tespit edilmeyenler ise unfertilize ovum (UFO) olarak değerlendirildi. Transfer edilebilir olarak değerlendirilen embriyolar 0.25 ml'lik steril embriyo payetlerine çekilerek transfer için hazırlandı.

Taşıyıcı olarak seçilen inek ve düvelerin östrüsleri, donörlerin östrüslerine paralel olacak şekilde senkronize edildi. Taşıyıcılar siklik olan ve postpartum en az 75 gününü dolduran hayvanlardan seçildi. Donörlere uygulanan süperovulasyon protokolü eşliğinde östrüsleri senkronize edilen taşıyıcıların östrüsleri günde üç kez 20'er dakikalık gözlemlerle tespit edildi. Östrüsleri belirlenen taşıyıcılardan uterus yıkaması yapılacak gün siklüsün 6, 7 ve 8. günlerinde olabilecek bir gün önce rektal muayene yapıldı. Muayenede ovaryumlarında en az 2 cm çapında, sert kıvamlı ve tercihen taçlı CL'a sahip olan ve uterus kornularında herhangi bir anormalite (sıvı birikimi, asimetri, aşırı yumuşaklık vb.) saptanmayanlar taşıyıcı olarak seçildi.

Transfer için hazırlanan embriyolar uterus yıkamasını takiben 2 saat içerisinde taşıyıcılara nakledildi. Embriyolar taşıyıcılara üst epidural anestezi eşliğinde, CL'un bulunduğu kornuya ipsilateral olarak tercihen kornunun üst 1/3'üne bırakıldı. İlk gebelik muayenesi 30. günde linear-array transrektal prob (5-7,5 MHz) kullanılarak ultrason (Falko, Pie Medikal, Hollanda) ile yapıldı.

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel yönden karşılaştırılması Minitab bilgisayar programı kullanılarak (MINITAB, Release 12.1, Minitab Inc.) t testi yardımıyla yapıldı.

BULGULAR

Çalışmada uterus yıkamaları sonucunda elde edilen bulgular Tablo 1'de sunulmuştur. Çalışmada uygulanan 13 süperovulasyon protokolünü takiben yıkama günü yapılan ultrasonografik ve rektal muayenelerde ovaryumlarda 150 corpus luteum

tespit edilmiş, yıkamalar sonucu petrilerin mikroskopta taranması neticesinde toplam 111 embriyonal yapı bulunmuştur.

Çalışmada elde edilen 77 transfer edilebilir embriyodan 34'ü uygun olan taşıyıcılara nakledilmiş, 30. günde (östrüs 0. gün) yapılan ultrasonografik muayenede 16 (%47.05) taşıyıcının gebe olduğu tespit edilmiştir. Embriyo transferi yapılan düve ve ineklerden elde edilen gebelik oranları Tablo 2'de gösterildi. Gebelik oranları açısından inek ve düveler arasında istatistikî fark tespit edilemedi.

Embriyoların gelişim evrelerine ve kalitelerine göre yapılan transfer ve elde edilen gebelik sayıları ve oranları sırasıyla Tablo 3 ve 4'te sunuldu. Çalışmada, embriyo kalitesi ve gelişme evresinin gebelik oranları üzerine etkisi önemli bulunmadı.

Donör ve taşıyıcıların östrüsleri arasındaki süre 12 saatlik zaman dilimlerine ayrılarak incelendiğinde elde edilen gebelik sonuçları Tablo 5'te görülmektedir. Donör ve taşıyıcıların östrüs zamanı farklarına göre elde edilen gebelik oranları arasında farklılık tespit edilmedi.

Tablo 1. İnek başına ortalama corpus luteum ve toplam ovum/embriyo sayıları ve kazanım oranı ile uterus yıkaması sonucu toplanan embriyoların kalite düzeylerine göre dağılımları (X±SEM)

Süperovulasyon (n)	13
Corpus luteum (n)	11.54±1.63
Kazanım Oranı (%)	74.0
Toplam ovum/embriyo (n)	8.54±1.69
Transfer edilebilir embriyo (n)	5.85±1.48
Kalite 1 (n)	3.23±1.18
Kalite 2 (n)	1.69±0.47
Kalite 3 (n)	0.92±0.42
Dejenere embriyo (n)	0.92±0.42
Unfertilize ovum (n)	1.23±0.68

Tablo 2. Elde edilen gebeliklerin inek ve düvelere göre dağılımı

	İnek	Düve
Transfer (n)	11	23
Gebe (n)	3	13
Gebe Olmayan (n)	8	10
Gebelik Oranı %	27.2	56.5

Tablo 3. Embriyo gelişim evrelerine göre elde edilen gebelik oranları

Embriyo Gelişim Evresi	Embriyo (n)	Transfer (n)	Gebelik (n) (Gebelik Oranı %)
Morula	63	25	12 (48.0)
Erken Blastosist	11	6	4 (66.7)
Blastosist	3	3	0 (0)
Toplam	77	34	16 (47.05)

Tablo 4. Embriyo kalitesine göre elde edilen gebelik oranları.

Emb. Kalitesi	Transfer (n)	Gebelik (n)	Gebelik oranı (%)
Kalite 1	19	9	47.4
Kalite 2	12	6	50.0
Kalite 3	3	1	33.3

Tablo 5. Donör ve taşıyıcıların östrüsleri arasındaki süre farkına göre elde edilen gebelik sonuçları

	+12 saat	0 saat	-12 saat
Transfer (n)	5	14	15
Gebelik (n)	3	6	6
Gebelik Oranı (%)	60	42.8	40

Donörlerin östrüs saatine göre hazırlanmıştır.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada, her uterus yıkaması başına geri kazanım sayısı ortalama 8.53, geri kazanım oranı ise %74.0 (111/150) olarak tespit edildi. Sartori ve ark. (2003), Holstein ırkı düvelerde derin ya da sunulan çalışmamızdaki gibi bifurkasyo uteri'den 5 cm ileride kateter balonunu sabitledikleri yöntemde geri kazanım oranını %63.9 tespit etmişlerdir. Araştırmacılar bu yöntemde geri kazanım oranının daha fazla olduğunu ve embriyo transferinde başarı oranının arttığını belirtmişlerdir. Dursun ve ark. (2006) ise, İsviçre Esmeri ineklerde CL ve geri kazanım sayılarını sırasıyla 9.4 ve 8.3 olarak bildirmişlerdir.

Süperovulasyon uygulaması sonucunda ortalama 10 embriyo elde edilebildiği ve bunun yaklaşık %50'sini transfer edilebilir embriyoların oluşturduğu bildirilmektedir (Bülbül ve Dursun 2005). Sunulan çalışmada ise süperovulasyon başına ortalama 5.92 transfer edilebilir embriyo elde edildi. Lopes da Costa ve ark. (2001), 400 mg NM-FSH-PI uygulaması sonrası 6.4 transfer edilebilir embriyo elde etmişlerdir. Ayrıca sunulan çalışmada elde edilen sonuç çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilen sonuçlarla da (Mapletoft ve ark. 2002, Novotny ve ark. 2005, Baruselli ve ark. 2006) uyumludur.

Taze embriyo transferinin yaygın olarak kullanımını engelleyen en önemli faktörlerden birisi süperovulasyon uygulamalarındaki cevapların çok değişken olmasıdır (Kâfi ve McGowan 1997). Süperovulasyon cevabının çok değişken olması ve donör-taşıyıcı östrüsleri arasındaki senkronizasyonun gerekliliği nedeniyle taze embriyo transferi uygulamalarında, elde edilen transfer edilebilir embriyo sayısı ve uygun taşıyıcı sayısı arasında uyumsuzluklar olmaktadır (Hasler 1992, Kanagawa ve ark. 1995). Bu çalışmada da uterus yıkaması yapıldığı gün uygun ve yeterli sayıda taşıyıcı olmamasından dolayı toplanan 77 transfer edilebilir embriyodan ancak 34'ü transfer edilebilmiştir.

Kanagawa ve ark. (1995), daha önceki çalışmalarda 7 günlük embriyoların transferi ile elde edilen gebelik oranlarının %26-65 arasında değiştiğini belirtmişlerdir. Gordon (2005) ise bu oranı %50-70 olarak belirtmektedir. Rodrigues ve ark. (2004)'ünün yaptıkları çalışmada ise taze transfer edilen embriyolardan %45.6 oranında gebelik elde etmişlerdir. Bu çalışmada ise gebelik oranı %47.1 olmuştur. Hasler (2004) embriyo transferinde gebelik oranlarının, kaliteli embriyoların uygun taşıyıcılara transfer edildiğinde %80'e yaklaşabileceğini belirtmektedir. Bu faktörlerin yanında taze embriyo transferinde gebelik oranlarını etkileyen birçok faktör daha bulunmaktadır. Bu faktörlerden biri de taze embriyo transferinde embriyoların değerlendirme aşamasıdır. Embriyoların sadece mikroskop altında morfolojik olarak değerlendirilmesi ile yaşama ve yeni doğana gelişme yetenekleri belirlenemediğinden embriyoların transferi sonrası elde edilen gebelik oranları değişebilmektedir (Hasler 2001).

Embriyo transferinin başarısına etki eden en önemli faktörlerden birisi de embriyo kalitesidir (Kanagawa ve ark. 1995). Yapılan çalışmalarda çoğunlukla 1. ve 2. kalite embriyolardan elde edilen gebelik oranları arasında farklılık olmadığını belirtmektedir (Spell ve ark. 2001, Freitas ve ark. 2004). Hasler (2001) ise embriyoların kalitesi kötüleştikçe gebelik oranlarının düştüğünü belirtmektedir. Bu çalışmada da 3. kalite embriyoların transfer sayısı çok düşük olduğundan tartışmada göz ardı edilerek yapılan değerlendirmede 1 ve 2. kalite embriyolardan elde edilen gebelik oranları arasında fark tespit edilemedi. Ayrıca embriyonun kalitesi değerlendiren pratisyene bağlı olarak da değişmektedir (Callesen ve ark. 1995). Farin ve ark.

(1999), pratisyenlerin yaptıkları embriyo kalitesi derecelendirmesinin elde edilecek gebelik oranları üzerine etkisini belirledikleri çalışmada, pratisyenlerden birisinin 100 embriyodan 53'ünü değerinin ise, 27'sini 1. kalite olarak değerlendirdiğini bildirmişlerdir. Buna göre embriyo kalitesinin değerlendirilmesi subjektif olduğundan, gebelik oranı embriyo kalitesine göre değerlendirildiğinde çalışmaların sonuçlarındaki kısmen değişkenlik oluşmaktadır. Bu çalışmada da embriyoların kalite değerlendirmeleri farklı pratisyenler tarafından yapılmış olduğundan embriyoların kalite sınıflandırılmasında farklılıklar oluşmuş olabilir.

Embriyonun gelişme evresinin gebelik oranı üzerine etkisinin incelendiği çalışmalarda elde edilen sonuçlarda farklılıklar bulunmaktadır. Çalışmaların bir kısmında gelişme evresinin gebelik oranını etkilemediği (Van Wagtendonck-de Leeuw ve ark. 1997, Hasler 2001, Spell ve ark. 2001), bir kısmında ise kompakt morula ve erken blastosist evresinde elde edilen gebelik oranının blastosist ve expand blastosist evresine göre daha fazla olduğu belirtilmektedir (Dochi ve ark. 1998). Rodrigues ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada ise morula, erken blastosist ve blastosist evresindeki embriyolarda gebelik oranları birbirine yakın olmasına rağmen expanded blastosist evresindeki embriyolardan elde edilen gebelik oranı düşük olmuştur. Sunulan çalışmada ise morula, erken blastosist ve blastosist gelişme evreleri arasında gebelik oranları yönünden farklılık tespit edilmemiş olmakla beraber farklı gelişme evrelerinde yapılan transfer sayılarının yetersiz olduğu düşünülmektedir.

Embriyo transferinde gebelik oranının, embriyo ve taşıyıcıların östrüsleri arasındaki senkronizasyonun uyumu ile yakından ilişkili olduğu çok iyi bilinmektedir (Hasler 2004). Spell ve ark. (2001) yaptıkları bir çalışmada, donör-taşıyıcı östrüsleri arasında -24, -12, 0, +12 ve +24 saat farklılıklarda elde edilen gebelik oranlarını sırasıyla %50, %71, %70.2, %76.3 ve %81.5 olarak tespit etmişlerdir. Donör-taşıyıcı arasındaki östrüs farklılığı ± 24 saat olması halinde gebelik oranları çok fazla etkilenmemektedir (Kanagawa ve ark. 1995, Lester ve ark. 1999, Hasler 2001, Hasler 2004). Bununla birlikte, ± 12 saat aralığından uzaklaştıkça gebelik oranlarında önemli olmayan düzeyde düşme olmakta ancak, 24 saati aşması halinde ise gebelik oranı önemli derecede düşmektedir (Kanagawa ve ark. 1995, Spell ve ark. 2001, Akyol ve ark. 2004). Sunulan çalışmada embriyo transferlerinin tamamı donörlere göre östrüsleri ± 12 saat olan taşıyıcılara yapıldığı için gebelik oranları birbirine yakın olmuştur. Ayrıca donör ve taşıyıcı arasındaki östrüs başlangıcı farklılıkları 12 saat ile sınırlı kaldığından ± 24 saat dışındaki transferlerden elde edilebilecek gebelik oranları değerlendirilmemiştir.

Bu çalışmada yapılan transferler sonrası düve ve inekler arasındaki gebelik oranları arasında fark olmamasına rağmen düvelerde gebelik oranının ineklerden daha fazla olma eğiliminde olduğu tespit edildi. Hasler (2001), hem taze hem de donmuş

embriyo transferleri sonrası düvelerde elde edilen gebelik oranının daha yüksek olduğunu belirtmiştir. Gebelik oranının ineklerde düşük olmasının, laktasyona bağlı bakım-besleme farklılıklarından kaynaklanabileceği bildirilmektedir (Hasler 2006). Ayrıca Silva ve ark. (2002), düvelerde embriyo transferi sonrası 7. günde plazma progesteron düzeyinin ineklere göre daha yüksek olduğunu ve buna bağlı olarak gebelik oranının daha yüksek bulunduğunu bildirmektedirler. Laktasyondaki ineklerde luteal fonksiyon ve gebelik oranı beslenme ve çeşitli metabolik faktörler nedeniyle düşük olmaktadır (Butler 2000). Sunulan çalışmada progesteron düzeyi tespit edilmemiş olmakla birlikte gebelik oranının düşük olması yukarıda tartışılan nedenlere bağlı olabilir.

Sonuç olarak bu çalışmada süperovulasyon ve embriyo transferi uygulamalarından elde edilen sonuçlara göre, ülkemizdeki kültür ırkı sığır varlığının ıslahında embriyo transferi uygulamalarından yararlanılabileceği; ayrıca, taze embriyo transferinin en önemli dezavantajlarından biri olan transfer edilebilir embriyo ve taşıyıcı sayısı arasındaki uyumsuzluğu ortadan kaldırmak ve iş gücü ve zamandan tasarruf sağlamak için embriyoların dondurularak muhafaza edilmesinin daha uygun olacağı kanaatine varıldı.

KAYNAKLAR

Akyol N (2001) Sığır embriyo transferinde hormon kullanımı. *Lalahan Hay. Araşt. Enst. Derg.*; 41 (1): 95-105.

Akyol N, Kızıl SH ve Tuncer PH (2004) İneklerde süperovulasyon ve embriyo transferi çalışmaları. *Lalahan Hay. Araşt. Enst. Derg.*; 44 (1): 1-5.

Baruselli PS, Sa Filho MF, Martins CM, Nasser LF, Nogueira MFG, Barros CM and Bo GA (2006) Superovulation and embriyo transfer in *Bos indicus* cattle. *Theriogenology*; 65: 77-88.

Betteridge KJ (2006) Farm animal embryo technologies: achievements and perspectives. *Theriogenology*; 65 (5): 905-913.

Butler WR (2000) Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim.Reprod. Sci*;60/61:449-457.

Bülbül B ve Dursun Ş (2005) İneklerde süperovulasyon cevabına etki eden faktörler. *Hay. Araş. Derg.* 15 (1), 16-25

Callesen H, Lovendahl P, Bak A and Greve T (1995) Factors affecting the developmental stage of embryos recovered on day 7 from superovulated dairy cattle. *Journal Dairy Sci.*; 73:1539-1543.

Dochi O, Yamamoto Y, Saga H, Yoshiba N, Kano N, Maeda J and Miyata K, Yamauchi A, Tominaga K, Oda Y, Nakashima T and Inohae S (1998) Direct transfer of bovine embryos frozen-thawed in the presence of propylene glycol or ethylene glycol under on-farm conditions in an integrated embryo transfer program. *Theriogenology*; 49: 1051-1058.

Dursun Ş, Bülbül B, Kirbaş M, Köse M ve Çolak M (2006) İsviçre Esmeri inek ve düvelerde süperovulasyon cevabının karşılaştırılması. II. Veteriner Jinekoloji Kongresi, 160, Antalya, Türkiye, 160.

Farin PW, Slennig BD and Britt JH (1999) Estimates of pregnancy outcomes based on selection of bovine embryos produced in vivo or in vitro. *Theriogenology*; 52: 659-670.

Freitas C, Palhão MP, Viana JHM, Arashiro EKN, Nogueira LAG and Sá WF (2004) Effect of the interaction between freezing and other sources of variation on pregnancy rates of f2 Holstein-GIR embryos. *Acta Scientiae Veterinariae*; 32(suplement): 160.

Gordon IR (2005) *Reproductive Technologies in Farm Animals*. Chapter 3, 82-107. Cambridge, MA, USA, CABI Publishing.

Hasler JH (1992) Current status and potential of embryo transfer and reproductive technology in dairy cattle. *Journal Dairy Sci.*; 75:2857-2879.

Hasler JH (2001) Factors affecting frozen and fresh embryo transfer pregnancy rates in cattle. *Theriogenology*;56:1401-1415.

Hasler JH (2004) Factors influencing the success of embryo transfer in cattle. 23rd World Buiatrics Congress, Quebec City, Canada.

Hasler (2006) The Holstein cow in embryo transfer today as compared to 20 years ago. *Theriogenology*; 65: 4-16.

Kafi M and McGowan MR (1997) Factors associated with variation in the superovulatory response of cattle. *Anim. Reprod. Sci*; 48: 137- 157.

Kanagawa H, Shimohira I and Saitoh N (1995) *Manual of Bovine Embryo Transfer*, Chapter 5, Transfer of Embryos, 169-243. Japan Livestock Technology Association.

Lester TD, McNew RW and Rorie RW (1999) Use of electronic estrous detection to evaluate the effect of embryo-recipient synchrony on pregnancy rate in cattle. *Theriogenology*; 51: 265

Lopes da Costa L, Silva JC and Silva JR (2001) Superovulatory response, embryo quality and fertility after treatment with different ggnadotrophins in native cattle. *Theriogenology*; 56: 66-77.

Mapletoft RJ, Steward KB and Adams GP (2002) Recent advances in the superovulation in cattle. *Reprod. Nutr. Dev.*;42:601-611.

Novotny F, Hajurka J and Macak V (2005) Relationship between blood serum progesterone levels in cattle donors and the yield and quality of embryos. *Bull Vet Inst Pulawy*; 49: 49-52.

Rodrigues CA, Ayres H, Reis EL, Nichi M, Bó GA and Baruselli PS (2004) Pregnancy rates of fresh and frozen-thawed embryos transferred in high production Holstein cows. *Acta Scientiae Veterinariae*; 32 (suplement): 161.

Sartori R, Suarez-Fernandez CA, Monson RL, Guenther JN, Rosa GJM and Wiltbank MC (2003) Improvement in recovery of embryos/ova using a shallow uterine horn flushing technique in

- superovulated Holstein heifers. *Theriogenology*; 60: 1319-1330.
- Seidel GE (1991) Applications of embryo transfer in: Training manual for embryo transfer in cattle, 3-13.
- Silva JC, Da Costa LL and Silva JR (2002) Plasma progesterone profiles and factors affecting embryo-fetal mortality following embryo transfer in dairy cattle. *Theriogenology*; 58: 51-59.
- Spell AR, Beal WE, Corah LR and Lamb GC (2001) Evaluating recipient and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle. *Theriogenology*; 56: 287-297.
- Tekeli T (1997) Embriyo Nakli. In "Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite". Ed. E Alaçam, Medisan, Ankara.
- Tekeli T, Erdem H, Uçar M, Aksoy M ve Yenice M (1998) Holstein ırkı ithal gebe dölvelerden oluşan bir sürünün doğum sonrası dölverimi performansının değerlendirilmesi. *Hay. Araş. Derg.*; 8: 23-28.
- Van Wagtenonlc-de Leeuw AM, La Den Daas JHG and Ra WF (1997) Field trial to compare pregnancy rates of bovine embriyo cryopreservation methods: Vitrification and one-step dilution versus slow freezing and three-step dilution. *Theriogenology*; 48: 1071-1084.
- Wright JM (1998) Photographic illustrations of embryo developmental stage and quality codes. In: Manual of the International Embryo Transfer Society. Stringfellow DA and Seidel SM (eds). 3rd edition. Manual of the Intwernational Embryo Transfer Society, Savoy, Illinosis, pp. 167-170.

İNEKLERDE SEKSÜEL SIKLUSUN ÇEŞİTLİ EVRELERİNDE DOMİNANT VE SEKONDER FOLLİKÜL SIVILARINDA OKSİDAN-ANTIÖKSİDAN DENGİNİN BELİRLENMESİ

Hacı Ahmet ÇELİK^{1*} Aziz BÜLBÜL² Gülcan AVCI³ İbrahim AYDIN⁴ İsmail KÜÇÜKKURT³

Determination of oxidant-antioxidant balance in dominant and secondary follicular fluids at various stages of estrous cycle in cows.

SUMMARY

In the present study, we aimed to determine oxidant-antioxidant levels in dominant and secondary follicular fluids of cows at various cycle periods. Ovaries obtained from 60 Holstein cows aged between 4–6 which had been brought into a private slaughterhouse, constituted the material of the study. Estrous cycle was divided into follicular phase (n=13), early (n=17), mid (n=16), and late (n=14) luteal phase groups depending on the postmortem examination of ovaries and plasma estrogen-progesterone levels. Dominant and secondary follicular fluids in ovaries were aspirated. At the end of the study, Glucose, Vitamin A, β -Carotene, Nitric Oxide, Malondialdehyde, and Antioxidant Activity levels were not the same in dominant and secondary follicular fluids of different cycle phases. Moreover, significant differences were found even between dominant and secondary follicular fluids belonging to the same cycle phase. In conclusion, we believe the changes in oxidative stress during phases of estrous cycle may influence follicular development and atresia.

KEY WORDS: Cow, Cycle phases, Follicular fluid, Oxidative stress, Lipid peroxidation

ÖZET

Bu araştırmada ineklerde farklı siklus dönemlerinde dominant ve sekonder follükül sıvılarında oksidan-antioksidan dengedeki değişimlerin belirlenmesi amaçlandı. Çalışma materyalini özel bir mezbahaya kesim amacıyla getirilen, 4–6 yaşlı, 60 baş Holstein ırkı inekten alınan ovaryumlar oluşturdu. Östrus siklusu, ovaryumların postmortem muayeneleri ve plazma östrojen-progesteron düzeylerine göre, follüküler (n=13), erken (n=17), orta (n=16) ve geç luteal (n=14) döneme ayrıldı. Ovaryum üzerinde bulunan dominant ve sekonder follükül sıvıları aspire edildi. Analiz sonunda, östrüs siklusu dönemlerinin dominant ve sekonder follükül sıvılarında Glikoz, Vitamin A, β -karoten, Nitrik Oksit, Malondialdehit ve Antioksidan aktivite düzeyinin farklı olduğu belirlendi. Bunun yanında aynı siklus döneminin dominant ve sekonder follükül sıvıları arasında da önemli değişimler gözlemlendi. Sonuç olarak östrüs siklusu dönemlerinde oksidatif stres şiddetindeki değişimin follüküler gelişim ve atreziiyi etkileyebileceği kanısına varıldı.

ANAHTAR KELİMELER: İnek, Siklus dönemi, Follükül sıvısı, Oksidatif stres, Lipid peroksidasyonu

GİRİŞ

Follüküler sıvı, memeli ovaryumu içinde avasküler bir bölüm olup, perifollüküler stromadan kan-follükül bariyeri ile ayrılmaktadır (Bagavandoss ve ark. 1983, Hafez 1987). Dolaşım kanının eksudatı olarak meydana gelen follükül sıvısı içinde follükül hücreleri tarafından sentezlenen ve bu hücrelerin

metabolizması sonucu açığa çıkan çok sayıda metabolik madde bulunmaktadır (Leroy ve ark. 2004). Follüküler sıvı oosit için uygun biyokimyasal bir ortam sağlarken, oositin olgunlaşması ve follükülden atılmasında da önemli rol oynamaktadır (Gosden ve ark. 1988, Fortune 1994, Guet ve ark. 1999).

Follüküller sıvının biyokimyasal içeriği, follükülün farklı gelişim dönemlerinde hücrelerin etkinliğine

1: Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji ABD, A. Necdet Sezer Kampusu, AFYONKARAHİSAR.

2: Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji ABD, Ahmet Necdet Sezer Kampusu, AFYONKARAHİSAR.

3: Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya ABD, Ahmet Necdet Sezer Kampusu, AFYONKARAHİSAR.

4. Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji ABD, Alaaddin Keykubat Kampusu, KONYA.

*E-posta: hacelik@aku.edu.tr

bağlı olarak değişmekte, oosit kalitesi ve gelişim fizyolojisini etkilemektedir (Wise 1987). Bununla birlikte ovaryumda bulunan fonksiyonel yapıların metabolizması sonucunda serbest radikaller olarak adlandırılan reaktif oksijen türleri de (ROS) oluşmaktadır. Oluşan serbest radikaller folliküler dinamiğin fizyolojisinde önemli işlevlere sahiptir (Agarwal ve ark. 2005). Serbest radikal özelliği bulunan nitrik oksit (NO), ovaryumda görev alan intraovarian araçlardan biridir (Yamauchi ve ark. 1997, Basini ve Tamanini 2000). Ovaryumda belirlenen nitrik oksit/nitrik oksit sentaz (NO/NOS) sistemi follikülogenez, ovulasyon, oosit maturasyonu ve steroid sentezi gibi ovaryum fonksiyonlarının gerçekleşmesinde rol oynar (Chen ve ark. 2001). Gonadotropinler tarafından düzenlenen kan-follikül bariyer işlevinin yerine getirilmesinde de görev alan NO, damar genişletici ve ovulasyon akyuvar dağıtımını üzerindeki etkisi ile ovulasyon ve follikül rupturunun sağlanmasında da fonksiyonel öneme sahiptir (Nemade ve ark. 2002). Bu etki ovaryum damar endotel hücreleri ve nöronlarında üretilen NO tarafından oluşturulur (Jablonka-Shariff ve Olson 1997, Rosselli ve ark. 1998).

Bununla beraber oluşan serbest radikallerin yoğunluğunun da kontrol altında bulunması gerekmektedir. Oksidan-antioksidan dengenin bozulması lipid peroksidasyonunu artırarak protein, nükleik asit ve diğer hücresel yapılara zarar vermektedir. Diğer dokularda olduğu gibi ovaryum dokusu ve follikül sıvısında ROS'ların etkilerini engelleyen veya azaltmada işlev gören antioksidanlar bulunmaktadır (Agarwal ve ark. 2005). Antioksidanlar lokal oksijen konsantrasyonunu azaltarak ve ROS'u ortadan kaldırarak işlev görmektedir. Antioksidanlardan vitamin A, β -karoten (Ikeda ve ark. 2005), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroxidase (GPx), ve katalazin follikül sıvısında bulunduğu bildirilmektedir (Fujii ve ark. 2005).

Seksüel siklus dönemlerinde ineklerde follikül sıvısı içeriğinin farklılık gösterdiği bilinmektedir (Hafez 1987). Bu çalışmada, östrüs siklusunun farklı dönemlerinde dominant ve sekonder follikül sıvılarında oksidatif strese bağlı meydana gelen değişimlerin belirlenmesi amaçlanmıştır

MATERYAL ve METOT

Çalışma materyalini özel bir mezbahaya kesim amacıyla getirilen 4-6 yaşlı, 60 baş Holstein ırkı inekten alınan ovaryumlar oluşturdu. Kesim öncesi hayvanların genel sağlık durumunun değerlendirilmesi amacıyla anamnez alındı. Genel sağlık problemi belirlenmeyen, rektal palpasyon ve ultrasonografik muayeneler sonucu reproduktif herhangi bir sorunu olmayan hayvanlar çalışmaya dahil edildi.

Ovaryumda bulunan follikül ve korpus luteum (CL)'un çapları ultrasonografik muayene ile

belirlendi. Ultrasonografik muayeneler 5-6 MHz, linear array, real time ultrason ile gerçekleştirildi (Falco 100, Pie medical, Maastrich, The Netherlands).

Hormon analizleri için kesim öncesi hayvanların v. jugularislerinden heparinli tüplere kan alındı ve 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı.

Hayvanların kesimini takiben ovaryumun iç ve dış görünüşü, follikül çapı, CL çapı ve damarlaşma kriterleri (Ireland ve ark. 1980) ile plazma 17 β -östradiol ve progesteron düzeylerine göre gruplar; folliküler dönem (FD) (n=13), erken (ELD) (n=17), orta (OLD) (n=16) ve geç luteal (GLD) (n=14) dönem olmak üzere oluşturuldu.

Postmortem inceleme sonrası ovaryum üzerindeki en büyük çapa sahip follikül (Dominant) ile ikinci en büyük çapa sahip (Sekonder) follikülerin sıvısı 22 G enjektör iğnesi ile aspire edildi. Elde edilen folliküler sıvısı 3000 rpm' de 15 dakika santrifüj edilerek süpernatant biyokimyasal analizler için ayrıldı.

Plazma 17- β östradiol ve progesteron düzeyinin belirlenmesi:

Östradiol (Cayman chemical company, USA, cat.no. 582251) ve progesteron (Cayman chemical company, USA, cat.no. 582601) düzeyi EIA ticari kit kullanılarak, üretici firmanın önerilerine göre belirlendi.

Follikül sıvısı nitrik oksit düzeyinin belirlenmesi:

Follikül sıvıları %10'luk Triklor asetik asit ile proteinden arındırıldıktan sonra ELISA pleytlerine 100 μ l aktarıldı. Üzerine 50 ml hidroklorik asitte 400 mg Vanadium klorür çözündürülmesiyle elde edilen çözüldürden 100 μ l eklendi. Bunun üzerine seri halde %2'lik hidroklorik asit ile 100 ml'ye tamamlanmış 2 g sülfanilamid çözeltisinden 50 μ l ve distile suda hazırlanmış %0.1'lik N-(1-naphthyl)-ethylenediamine-dihydrochlorid çözeltisinden 50 μ l ilave edildi. Örnekler 37°C'de 30 dakika inkübasyona bırakıldıktan sonra kültür plağı okuyucusunda (Titerteks-Multiskan, M.C., Finlandiya) 550 nm'de okundu. Absorbanslar sodyum nitrat ile hazırlanan standart kalibrasyon eğrisinde değerlendirildi.

Follikül sıvısında glikoz, vitamin A, β -karoten, malondialdehit ve antioksidan aktivite düzeyinin belirlenmesi

Örneklerde glikoz (TECO Diagnostics, California, USA) ve MDA (Bioxytech MDA-586, OxisResearch, CA, USA) ticari kitler ile spektrofotometrik olarak belirlendi. Vitamin A ve β -karoten düzeyi Suziki ve Katoh (1990) ve antioksidan aktivite düzeyi ise Koracevic ve ark. (2001) belirttiği yöntemle göre spektrofotometrik olarak belirlendi.

İstatistikî analizler:

Dominant ve sekonder folliküllerin biyokimyasal sonuçları bakımından gruplar arasında farklılığın belirlenmesinde Tek Yönlü Varyans Analizi, farklılığın hangi gruplardan kaynaklandığını belirlemek için ise Duncan testi yapıldı. Ayrıca grup içerisinde dominant ve sekonder folliküller arasında farklılığın belirlenmesinde ise paired t-testi kullanıldı. Tüm değerler mean±S.D. şeklinde sunuldu. İstatistiksel değerlendirmeler SPSS 10.0 programı kullanılarak yapıldı.

BULGULAR

İneklerde folliküler dönem ile erken, orta ve geç luteal dönemlere ait dominant follikül ve corpus

luteum çapları Tablo 1'de gösterilmiştir. Follikül çapı, orta ve geç luteal dönemlerde benzerken folliküler dönemde en büyük, erken luteal dönemde ise en küçük olarak belirlendi ($P<0.001$). Korpus luteum çapı orta luteal dönemde en büyük, erken luteal dönemde ise en küçük olarak tespit edildi ($P<0.001$).

Plazma 17- β östradiol ve progesteron düzeyleri Tablo 2'de gösterilmiştir. En yüksek 17- β östradiol düzeyi folliküler dönemde, en düşük ise erken luteal dönemde ölçüldü ($P<0.001$). Progesteron düzeyinin orta ve geç luteal dönemde farklı olmadığı bu iki dönemin folliküler ve erken luteal döneme göre yüksek olduğu tespit edildi ($P<0.001$).

Dominant folliküllerde glikoz, vitamin A, β -karoten, NO, Malondialdehid (MDA) ve Antioksidan Aktivite (AOA) düzeyleri Tablo 3'de, sekonder folliküllerde ise Tablo 4'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Folliküler ve luteal dönemde dominant follikül ve korpus luteum çapı (mm).

	FD	ELD	OLD	GLD	P<
Follikül	16.23±0.62 ^a	10.17±0.35 ^c	13.10±0.65 ^b	12.96±0.52 ^b	0.001
CL	-	10.80±0.08 ^c	23.10±0.16 ^a	19.30±0.13 ^b	0.001

FD: Folliküler dönem, ELD: Erken luteal dönem, OLD: Orta Luteal dönem, GLD: Geç luteal dönem, CL: Korpus luteum
^{a,b,c,d}: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan değerler arasında istatistikî fark belirlenmiştir.

Tablo 2. Folliküler ve luteal dönemde plazma 17- β östradiol (pg/ml) ve progesteron (ng/ml) düzeyleri.

	FD	ELD	OLD	GLD	P<
17- β östradiol	7.84±0.51 ^a	1.22±0.07 ^d	4.78±0.54 ^b	2.84±0.55 ^c	0.001
Progesteron	0.76±0.05 ^b	1.28±0.08 ^b	5.79±0.56 ^a	4.86±0.71 ^a	0.001

FD: Folliküler dönem, ELD: Erken luteal dönem, OLD: Orta Luteal dönem, GLD: Geç luteal dönem
^{a,b,c,d}: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan değerler arasında istatistikî fark belirlenmiştir.

Tablo 3. Folliküler ve luteal dönem dominant follikül sıvılarında glikoz, vitamin A, β -karoten, MDA, NO ve AOA düzeyleri.

	FD	ELD	OLD	GLD	P<
Glikoz (mg/dl)	90.20±4.16 ^b	129.50±4.71 ^a	129.33±4.36 ^a	126.25±5.95 ^a	0.001
Vitamin A (μ g/dl)	127.89±4.06 ^a	14.91±0.79 ^c	13.47±0.83 ^c	86.33±4.09 ^b	0.001
β -karoten (μ g/dl)	49.49±2.42 ^a	28.34±1.33 ^b	31.91±1.29 ^b	28.45±2.02 ^b	0.001
MDA (μ mol/L)	7.84±0.39 ^a	5.35±0.22 ^b	5.77±0.21 ^b	5.60±0.29 ^b	0.001
NO (μ mol/L)	34.22±1.96 ^a	21.76±1.10 ^b	23.88±1.08 ^b	23.01±1.18 ^b	0.001
AOA (mmol/L)	7.30±0.54 ^b	8.32±0.42 ^b	8.49±0.44 ^b	9.94±0.45 ^a	0.01

FD: Folliküler dönem, ELD: Erken luteal dönem, OLD: Orta Luteal dönem, GLD: Geç luteal dönem
 MDA: Malondialdehid, NO: Nitrik oksit, AOA: Antioksidan aktivite
^{a,b,c}: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan değerler arasında istatistikî fark belirlenmiştir.

Tablo 4. Folliküler ve luteal dönemde sekonder follikül sıvılarında glikoz, vitamin A, β -karoten, MDA, NO ve AOA düzeyleri.

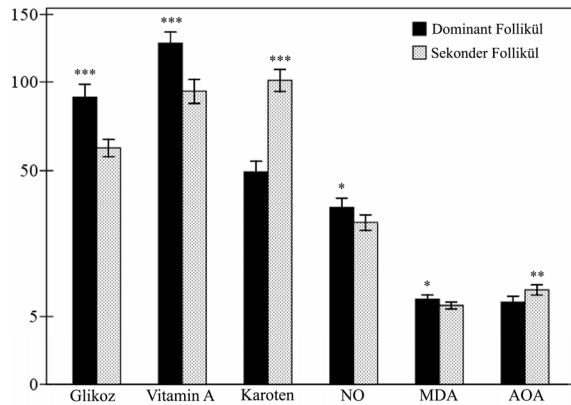
	FD	ELD	OLD	GLD	P<
Glikoz (mg/dl)	60.96±2.16 ^b	70.40± 4.00 ^b	67.48±4.42 ^b	108.90±3.03 ^a	0.001
Vitamin A (μ g/dl)	94.00±3.77 ^a	25,76± 1.52 ^d	40.52±2.49 ^c	50.22±3.80 ^b	0.001
β -karoten (μ g/dl)	101.08±3.62 ^a	17.05± 1.10 ^b	19.81±1.06 ^b	21.27±1.22 ^b	0.001
MDA (μ mol/L)	6.73±0.27 ^a	2.58± 0.10 ^b	3.01±0.09 ^b	2.00±0.09 ^b	0.001
NO (μ mol/L)	28.69±1.36 ^a	8.15± 0.42 ^b	10.01±0.48 ^b	9.81±0.25 ^b	0.001
AOA (mmol/L)	9.67±0.52 ^a	7.79± 0.50 ^b	10.20±0.38 ^a	9.90±0.42 ^a	0.02

FD: Folliküler dönem, ELD: Erken luteal dönem, OLD: Orta Luteal dönem, GLD: Geç luteal dönem
 MDA: Malondialdehid, NO: Nitrik oksit, AOA: Antioksidan aktivite
^{a,b,c,d}: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan değerler arasında istatistikî fark belirlenmiştir.

Glikoz düzeyinin dominant folliküllerde erken, orta ve geç luteal dönemlerde değişmediği folliküler dönemde ise bu dönemlere göre azaldığı; sekonder folliküllerde ise folliküler, erken ve orta luteal dönemlerde fark olmadığı bu dönemlere göre geç luteal dönemde arttığı görüldü ($P<0.001$). Vitamin A dominant folliküllerde en yüksek folliküler dönemde, en düşük ise erken ve orta luteal dönemde belirlendi. Sekonder folliküllerde ise en yüksek folliküler dönemde, en düşük erken luteal dönemde görüldü. β -karoten, Nitrik oksit ve MDA düzeyinin dominant ve sekonder folliküllerde erken, orta ve geç luteal dönemde benzer olduğu folliküler dönemde ise arttığı belirlendi ($P<0.001$). Antioksidan aktivite ise dominant folliküllerde geç luteal dönemde en yüksek, sekonder folliküllerde ise folliküler, orta ve geç luteal dönemler arasında fark belirlenmezken erken luteal dönemde azaldığı belirlendi ($P<0.01$).

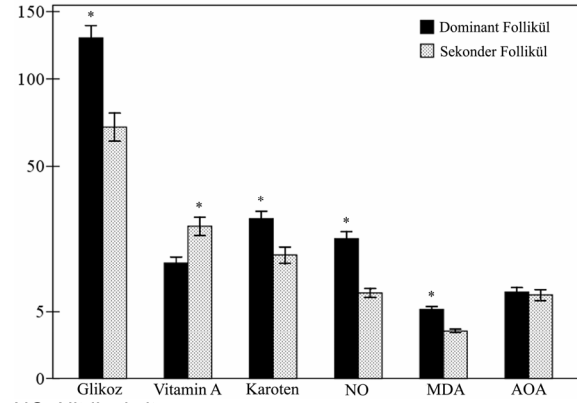
Folliküler dönemde, dominant folliküllerde glikoz ($P<0.001$), vitamin A ($P<0.001$), MDA ($P<0.001$) ve NO ($P<0.05$) düzeyinin sekonder folliküllere göre yüksek, β -karoten ($P<0.001$), ve AOA'nin ($P<0.05$) düşük olduğu belirlendi. (Şekil 1.) Erken luteal dönemde dominant folliküllerde glikoz ($P<0.001$), β -karoten ($P<0.001$), NO ($P<0.001$), MDA ($P<0.001$) düzeyinin sekonder folliküllere göre yüksek, vitamin A'nın ($P<0.001$) düşük, AOA'nin benzer olduğu gözlemlendi (Şekil 2.)

Şekil 1. Folliküler dönem dominant ve sekonder folliküllerinde Glikoz (mg/dl), Vitamin A (μ g/dl), β -karoten (μ g/dl), NO (μ mol/L) MDA (μ mol/L) ve AOA (mmol/L) düzeyleri.



NO: Nitrik oksit;
MDA: Malondialdehid;
AOA: Antioksidan aktivite
*: ($P<0.05$), **: ($P<0.01$), ***: ($P<0.001$).

Şekil 2. Erken luteal dönem dominant ve sekonder folliküllerinde Glikoz (mg/dl), Vitamin A (μ g/dl), β -karoten (μ g/dl), NO (μ mol/L), MDA (μ mol/L) ve AOA (mmol/L) düzeyleri.

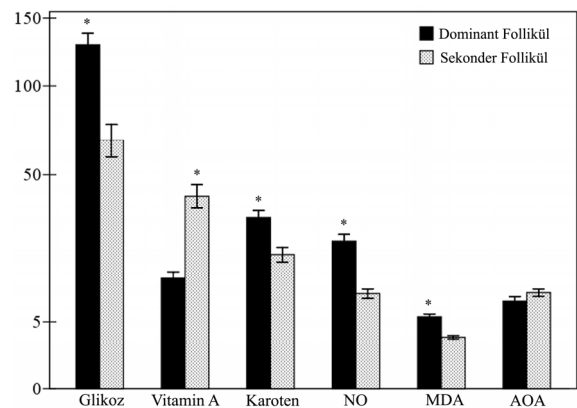


NO: Nitrik oksit;
MDA: Malondialdehid;
AOA: Antioksidan aktivite
*: ($P<0.001$).

Orta luteal dönemde dominant folliküllerde glikoz ($p<0.001$), β -karoten ($P<0.001$), NO ($P<0.001$), MDA ($P<0.001$) düzeyinin sekonder folliküllere göre yüksek, vitamin A ($P<0.001$) düzeyinin düşük olduğu, ayrıca AOA'nin benzer olduğu tespit edildi (Şekil 3).

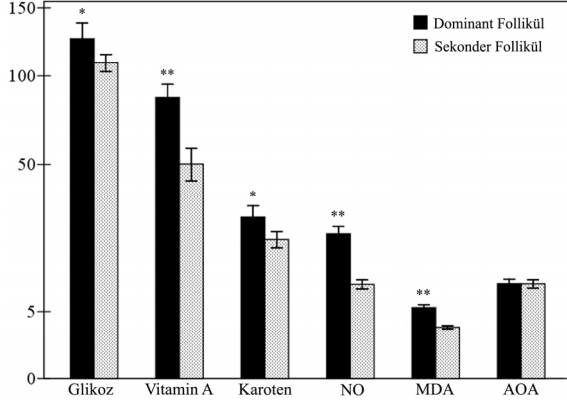
Geç luteal dönemde dominant folliküllerde glikoz ($P<0.001$), vitamin A ($P<0.001$), β -karoten ($P<0.05$), NO ($P<0.001$) ve MDA ($P<0.001$) düzeyinin sekonder folliküllere göre yüksek, AOA'nin ise benzer olduğu belirlendi (Şekil 4).

Şekil 3. Orta luteal dönem dominant ve sekonder folliküllerinde Glikoz (mg/dl), Vitamin A (μ g/dl), β -karoten (μ g/dl), NO (μ mol/L), MDA (μ mol/L) ve AOA (mmol/L) düzeyleri.



NO: Nitrik oksit;
MDA: Malondialdehid;
AOA: Antioksidan aktivite
*: ($P<0.001$).

Şekil 4. Geç luteal dönem dominant ve sekonder folliküllerinde Glikoz (mg/dl), Vitamin A (µg/dl), β-karoten (µg/dl), NO (µmol/L), MDA (µmol/L) ve AOA (mmol/L) düzeyleri.



NO: Nitrik oksit;
MDA: Malondialdehid;
AOA: Antioksidan aktivite
*: (P<0.05), **: (P<0.001).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Oksidatif stres; oksidan ve antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar lehine değişmesi olarak adlandırılmaktadır (Agarwal ve ark. 2005). Sunulan çalışmada östrüs siklusunun farklı dönemlerinde dominant ve sekonder follikül sıvılarında oksidatif stresde meydana gelen değişimlerin belirlenmesi amacıyla follikül sıvısında glikoz, vitamin A, β-karoten, NO, MDA ve AOA düzeyleri belirlendi.

Siklus döneminin tespitinin ovaryumlar üzerlerinde bulunan fonksiyonel yapıların iç ve dış görünüşü, follikül çapı, CL çapı ve vaskülarizasyon gibi morfolojik kriterlere bağlı olarak yapılabileceği bildirilmektedir (Ireland ve ark. 1980). İneklerde folliküllerin östrojen sentezleme yeteneği follikül gelişimine paralel bir şekilde artış göstermektedir (Fortune 1994). Ginther ve ark. (2000) yaptıkları çalışmada siklusun luteal döneminde artan progesteron baskısı nedeni ile follikül gelişiminin folliküler döneme göre daha düşük düzeyde gerçekleştiğini bildirmektedirler. Bildirilere uygun olarak bu çalışmada folliküler dönemde plazma östrojen düzeyi luteal döneme göre daha yüksek, progesteron düzeyi ise düşük belirlenmiştir (P<0.001). Plazma östrojen ve progesteron düzeyleri postmortem ovaryum bulgularını destekler nitelikte bulunmuştur.

Ovaryumun ana enerji kaynağının glikoz olduğu bildirilmektedir (Rabiee ve Lean 2000). Aynı zamanda inek oositlerinde maturasyon için glikozun dışarıdan alması gereken bir enerji substratı olduğu ifade edilmektedir (Iwata ve ark. 2004). Mihm ve ark. (1996) folliküler dönemde hücrel faaliyetlerin arttığını, Ginther ve ark. (2000) ise luteal dönemde

progesteronun baskılayıcı etkisi ile metabolik faaliyetlerin azaldığını bildirmektedirler. Bu çalışmada folliküler dönemde dominant ve sekonder folliküllerde glikoz düzeyi, luteal döneme göre düşük bulunmuştur (P<0.001). Bu bulgu, folliküler dönemde folliküllerdeki metabolik faaliyetlerin sonucunda glikozun harcandığını düşündürmektedir. Araştırmamızda dört dönemde de sekonder folliküllerde dominant folliküllere göre glikoz düzeyinin düşük bulunması sekonder folliküllerin atrezi olması sonucunda enerji kullanım gereksinimlerinin azalmasına bağlanabilir. Nitekim Ginther ve ark. (1989) ovaryum üzerinde bulunan sekonder folliküllerin, folliküler sapma sonrasında gelişim yeteneğini kaybettiğini bildirmişlerdir.

Vitamin A reproduksiyon için esansiyel olup hem follikül çapını hem de kalitesini etkilemektedir. Follikül çapı ile vitamin A düzeyi arasında pozitif bir korelasyon olduğu bildirilmektedir (Schweigert ve ark. 1986). Bildirimlerle uyumlu olarak bu çalışmada folliküler dönem dominant follikülünde vitamin A düzeyinin en yüksek olduğu belirlendi. Benzer olarak sekonder folliküllerde de bu dönemde vitamin A'da artış belirlendi. İneklerde follikül sıvısında bulunan vitamin A follikül içine özel taşıyıcılara bağlı şekilde kandan selektif olarak taşınmakta aynı zamanda follikül granuloza hücrelerinde bulunan β-karoten cleavage aktivitesi ile de β-karotenden vitamin A sentezlenmektedir. Dolayısıyla gelen retinol ile follikül hücrelerinde sentezlenen retinol, intrafolliküler vitamin A için kaynak oluşturmaktadır (Ikeda ve ark. 2005). Sunulan çalışmada folliküler dönem dominant ve sekonder follikül sıvılarında β-karoten düzeyinin diğer dönemlere göre yüksek bulunması, β-karotenden vitamin A sentezinin arttığını gösterirken, bu dönemlere ait vitamin A düzeyindeki artışlar da bunu desteklemektedir.

Vitamin A düzeyinin dominant folliküllerde sekonder folliküllere göre daha yüksek seviyede bulunduğu bildirilmektedir (Schweigert ve ark. 1986). Çalışmada ise vitamin A düzeyinin erken ve orta luteal dönemin sekonder folliküllerinde daha yüksek, geç luteal ve folliküler dönemde ise düşük olduğu belirlendi.

Aynı zamanda oksidan olarak ifade edilen reaktif oksijen türlerinin steroidogenezis ve folliküler atresi gibi reproduktif fizyolojide görev aldığı ifade edilmektedir (Valdez ve ark. 2005). Nitekim serbest radikal olarak ifade edilen nitrik oksit de follikül gelişimi için gerekli olduğu bildirilmektedir (Chen ve ark. 2001). Gerek plazmada gerekse follikül sıvısında nitrik oksit artışından östrojenin de sorumlu olduğu, özellikle östrojenin folliküllerde NOS ekspresyonunu artırarak NO sentezini uyardığı bildirilmektedir (Tamanini ve ark. 2003). Bu çalışmada da folliküler dönemde gerek sekonder gerekse dominant folliküllerde nitrik oksit artışı belirlendi. Ayrıca nitrik oksit düzeyi dominant folliküllerde sekonder folliküllere göre 4 dönemde de yüksek belirlendi. Bu bulgu ovulasyona gidecek olan dominant follikül için nitrik oksidin önemini ortaya koymaktadır.

Malondialdehit, non-enzimatik yolla çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı sonucu ya da araşidonik asidin oksijenasyonunda yan ürün olarak açığa çıkmakta ve serbest radikal hasarının bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Niedernhofer ve ark. 2003). Folliküler sıvıda lipid peroksidasyonunda artışın folliküler atresiye neden olduğu bildirilmektedir. Bu çalışmada dominant folliküllerde folliküler dönemde erken, orta ve geç luteal dönemlere göre MDA düzeyinin dolayısı ile lipid peroksidasyonunun arttığı belirlendi. Aynı zamanda sekonder folliküllerde, dominant folliküllere göre MDA düzeyinde artış görüldü. Araştırma bulguları Valdez ve ark. (2005)'nin bildirimleri ile uyumlu bulunmuştur.

Folliküler dinamik sürecinde geç luteal dönem dominant follikülü gelişimini devam ettirerek folliküler dönemde ovulasyona uğramaktadır. Araştırmada AOA'nın dominant folliküllerde geç luteal dönemde diğer dönemlere göre yüksek olması ovumun gelişme döneminde lipid peroksidasyonunun zararlarına karşı koruyucu bir rol oynadığını düşündürmektedir. Buna karşın folliküler dönem dominant follikülünde MDA'nın yüksek, AOA'nın ise düşük olması lipid peroksidasyonundaki artışın ovulasyonun fizyolojisinde önemli olduğu izlenimi vermektedir.

Sonuç olarak, östrüs siklusu dönemlerinde dominant ve sekonder follikül sıvılarında glikoz, vitamin A, B-karoten, NO, MDA ve AOA düzeyinin değiştiği belirlenmiştir. Bu değişimler oxidan-antioksidan dengenin follikül sıvısında dinamik olduğunu ve oksidatif stresin folliküler gelişim ve atreziyi etkileyebileceğini ifade etmektedir.

KAYNAKLAR

Agarwal A, Gupta S and Sharma RK (2005) Role of oxidative stress in female reproduction. *Reprod Biol Endocrinol*; 3: 28.

Bagavandoss P, Midgley AR and Wicha M (1983) Developmental changes in the ovarian follicular basal lamina detected by immunofluorescence and electron microscopy. *J Histochem Cytochem*; 31: 633-640.

Basini G and Tamanini C (2000) Selenium stimulates estradiol production in bovine granulosa cells: possible involvement of nitric oxide. *Domest Anim Endocrinol*; 18: 1-17.

Chen HW, Jian WS and Tzeng CR (2001) Nitric oxide as a regulator in preimplantation embryo development and apoptosis. *Fertil Steril*; 75: 1163-71.

Fortune JE (1994) Ovarian follicular growth and development of mammals. *Biol Reprod*; 50: 225-232.

Fujii J, Iuchi Y and Okada F (2005) Fundamental roles of reactive oxygen species and protective mechanisms in the female reproductive system. *Reprod Biol Endocrinol*; 3: 43.

Ginther OJ, Kastelic JP and Knopf L (1989) Composition and characteristic of follicular waves during the bovine estrous cycle. *Anim Reprod Sci*; 20: 187-200.

Ginther OJ, Bergfelt DR, Kulick LJ and Kot K. (2000) Selection of the dominant follicle in cattle: Role of estradiol. *Biol Reprod*; 63: 383-389.

Gosden RG, Hunter RHF, Telfer E, Torrance C and Brown N (1988) Physiological factors underlying the formation of ovarian follicular fluid. *J Reprod Fertil*; 82: 813-825.

Guet P, Royere D, Paris A, Lansac J and Driancourt MA (1999) Aromatase activity of human granulosa cells in vitro: effects of gonadotropin and follicular fluid. *Human Reprod*; 14: 1182-1189.

Hafez ESE (1987) Reproductive cycles, physiology of reproduction. In "Reproduction in Farm Animals", 5th edition, Lea and Febiger, Philadelphia.

Ikeda S, Kitagawa M, Imai H and Yamada M (2005) The Roles of Vitamin A for Cytoplasmic Maturation of Bovine Oocytes. *J Reprod Dev*; 51 (1): 23-35.

Ireland JJ, Murphee RL and Coulson PB (1980) Accuracy of predicting stages of bovine estrous cycle by gross appearance of the corpus luteum. *J Dairy Sci*; 63: 155-160.

Iwata H, Hashimoto S, Ohta M, Kimura K, Shibano K and Miyake M (2004) Effects of follicle size and electrolytes and glucose in maturation medium on nuclear maturation and developmental competence of bovine oocytes. *Reproduction*; 127: 159-164.

Jablonka-Shariff A and Olson LM (1997) Hormonal regulation of nitric oxide synthases and their cell-specific expression during follicular development in the rat ovary. *Endocrinology*; 138: 460-468.

Koracevic D, Koracevic G, Djordjevic V, Andrejevic S and Cosic V (2001) Method for the measurement of antioxidant activity in human fluids. *J Clin Pathol*; 54: 356-361.

Leroy JLMR, Vanholder T, Delanghe JR, Opsomer G, Van Soom A, Bols PEJ, Dewulf J and de Kruif A (2004) Metabolic changes in follicular fluid of the dominant follicle in high-yielding dairy cows early post partum. *Theriogenology*; 15: 1131-1143.

Mihm M, Diskin MG and Roche JF (1996) Regulation of follicle wave growth in cattle. *Reprod Dom Anim*; 31: 531-538.

Nemade RV, Carrette O, Larsen WJ and Markoff E (2002) Involvement of nitric oxide and the ovarian blood follicle barrier in murine follicular cyst development. *Fertil Steril*; 78: 1301-1308.

Niedernhofer LJ, Daniels JS, Rouzer CA, Grene RE and Marnett LJ (2003) Malondialdehyde, a product of lipid peroxidation, is mutagenic in human cells. *J Biol Chem*; 278: 31426-31433.

Rabee AR and Lean IJ (2000) Uptake of glucose and cholesterol by the ovary of sheep and cattle and the influence of arterial LH concentrations. *Anim Reprod Sci*; 64: 199-209.

- Rosselli M, Keller PJ and Dubey RK (1998) Role of nitric oxide in the biology, physiology and pathophysiology of reproduction. *Human Reprod*; 4 (1): 3-24.
- Schweigert FJ, Lutterbach A, Rambeck WA and Zucker H (1986) Vitamin a and b-carotene concentrations in bovine follicular fluid in relationship to follicle size. *J Vet Med A*; 33: 360-364.
- Suzuki J and Katoh N (1990) A simple and cheap methods for measuring serum vitamin A in cattle using only a spectrophotometer. *Jpn J Vet Sci*; 52: 1281-1283.
- Tamanini C, Basini G, Grasselli F and Tireli M (2003) Nitric oxide and the ovary. *J Anim Sci*, 81, E1-E7
- Valdez KE, Cuneo SP and Turzillo AM (2005) Regulation of apoptosis in the atresia of dominant bovine follicles of the first follicular wave following ovulation. *Reproduction*; 130: 71-81.
- Wise T (1987) Biochemical analysis of bovine follicular fluid: Albumin, total protein, lysosomal enzymes, ions, steroids and ascorbic acid content in relation to follicular size, rank, atresia classification and day of estrous cycle. *J Anim Sci*; 64: 1153-1169.
- Yamauchi J, Miyazaki T, Iwasaki S, Kishi I, Kuroshima M, Tei C and Yoshimura Y (1997) Effects of nitric oxide on ovulation and ovarian steroidogenesis and prostaglandin production in the rabbit. *Endocrinology*; 138 (9): 3630-3637.

AŞIM SEZONUNDA ÖSTRÜSLERİ SENKRONİZE EDİLEN KONYA MERİNOSU KOYUNLARDA EMBRİYONİK ÖLÜMLERİN REAL-TİME ULTRASON İLE BELİRLENMESİ

Hüseyin ERDEM^{1*} M. Kemal SARIBAY² Tevfik TEKELİ¹

Determination of the Incidence of embryonic mortality with real-time ultrasound in synchronized Konya Merino ewes in the breeding season

SUMMARY

The aim of the present study was to evaluate the incidence of embryonic mortality in synchronized Konya Merino ewes (2–4 years of age, n: 126) during the breeding season. The ewes were treated with a progesterone synchronization protocol. The pregnancy diagnoses were done transrectally on days 18, 22, 26, 30, and 34 after mating with real-time ultrasonography. One hundred eleven ewes were pregnant on day 18, and 191 embryos were detected in 111 pregnant ewes. Embryonic deaths were determined in 39 of 111 ewes (35.1%), and 45 of the total 191 embryos were lost (23.6%). The majority of embryonic deaths was observed on day 22 in single pregnancies and on day 26 in multiple pregnancies.

Incidence of termination of pregnancy in single pregnancies was significantly higher than twin pregnancies ($P<0.01$). The difference in the percentage of embryonic mortality between single and twin pregnancies was not significant while the difference between single and triple, and twin and triple pregnancies were significant ($P<0.05$ and $P<0.01$, respectively).

In conclusion, incidence of embryonic death was similar between the ewes with single and twin pregnancies, but majority of pregnancy losses was observed in single pregnancies. Embryonic deaths were regarded as a considerable reason of economic loss in multiple pregnancies. Therefore, applications to improve the survival of embryos during the first month after mating might yield higher number of lambs.

KEY WORDS: Ewe, embryonic mortality, synchronization

ÖZET

Bu çalışmada; aşım sezonunda östrüsleri senkronize edilmiş 2–4 yaşlı, 126 adet Konya Merinosu koyunda embriyonik ölümlerin insidansı değerlendirilmiştir. Koyunlara progesteron hormonu ile senkronizasyon programı uygulandı. Gebelik muayeneleri transrektal yoldan aşım sonrası 18, 22, 26, 30 ve 34. günlerde real-time ultrason ile yapıldı. Onsekizinci günde yapılan muayenede 111 adet koyunda gebelik ve bu koyunlarda 191 embriyo belirlendi. Embriyonik ölüm 111 adet koyunun 39'unda (%35.1) ve 191 adet embriyonun 45'inde (%23.6) belirlendi. Embriyonik ölümler daha çok tekli gebeliklerde 22., çoğul gebeliklerde ise 26. günde yapılan muayenelerde gözlemlendi.

Gebeliğin sonlanması tekli gebeliklerde ikiz gebeliklere göre daha yüksek oranda gözlemlendi ($P<0.01$). Embriyonik ölüm açısından değerlendirildiğinde ise tekli ve ikiz gebelikler arasında istatistikî fark bulunmazken; tekli ve üçüz gebelikler ile ikiz ve üçüz gebelikler arasındaki kayıplar önemli bulunmuştur ($P<0.05$ ve $P<0.01$).

Sonuç olarak, embriyonik ölüm insidansı tekli ve ikiz gebeliklerde benzer olmakla birlikte, tekli gebeliklerde gebeliğin sonlanmasının daha yüksek oranda olduğu belirlenmiştir. Bu durum çoğul gebeliklerde embriyonik ölümlerin kısmi bir sorun olduğu izlenimi vermektedir. Dolayısıyla aşım sonrası ilk 30 gün gebeliklerin desteklenmesinin daha fazla yavru verimiyle sonuçlanacağı kanısına varıldı.

ANAHTAR KELİMELER: Koyun, embriyonik ölüm, senkronizasyon

GİRİŞ

Embriyonik ölümler; embriyonal dönemde karşılaşılan ve fertilité kaybına neden olan bir sorun olarak tanımlanmakta ve evcil hayvanlarda infertilitenin önemli bir nedeni olarak kabul edilmektedir. Koyunlarda embriyonal dönem aşım sonrası gebe kalanlarda 34. güne kadar olan süre olarak tanımlanmaktadır (Ley 1985). Aşım yaptırılan koyunlarda 13. günden önce meydana gelen embriyonik ölümlerde uterusan salınan PGF2 α etkisiyle corpus luteum lize olduğundan siklus uzunluğu değişmemekte, 13–19. günler arasında meydana gelen embriyonik ölümlerde ise corpus luteum varlığını 2–18 gün devam ettirdiğinden östrüs siklusu uzamaktadır (Nancarrow 1994).

Koyunlarda embriyonik ölümlerin insidansının %20–30 arasında değiştiği bildirilmektedir (Nancarrow 1994, Wilkins 1997). Bununla birlikte östrüsleri senkronize edilen koyunlarda embriyonik ölüm oranının daha yüksek olduğu ileri sürülmektedir (Nancarrow 1994). Lunstra ve Christenson (1981) ise; toplam reproduktif kaybın östrüsleri aşım sezonunda senkronize edilen koyunlarda %49, senkronize edilmeyen koyunlarda ise %25 olduğunu bildirmektedirler. Koyunlarda meydana gelen embriyonik ölümlerin çoğunun 30. günden önce şekillendiği ve 30. günden sonraki kayıpların %1–4 arasında değiştiği bildirilmektedir (Bretzlaff ve ark. 1993, Nancarrow 1994, Kaulfuss ve ark. 1996, Wilkins 1997, Alost ve ark. 1998). Michels ve ark. (1998); toplam kayıpların %73'ünün implantasyondan önce, %23'ünün implantasyondan sonra ve %4'ünün de fetal dönemde olduğunu belirtmektedirler. Strmsnik ve ark. (2002) ise; embriyonik ölümlerin insidansının 3–30. günler arasında en yüksek oranda gerçekleştiğini bildirmektedirler. Sarıbay (2005) yaptığı doktora tez çalışmasında ise aşım sezonunda doğal aşım yaptırılan koyunlarda 18–34. günler arasında %8.9 oranında embriyonik ölüm meydana geldiğini bildirmektedir.

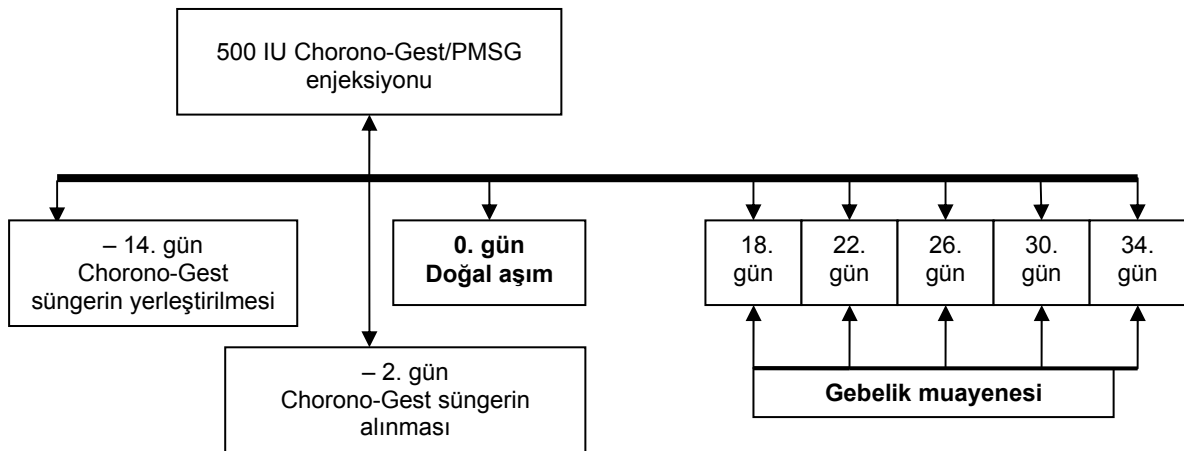
Veteriner hekimlikte real-time ultrason rutin gebelik muayenesi, gebelik anomalileri ve ovaryum fonksiyonlarının izlenmesinde güvenilir olması ve hemen sonuç vermesi nedeniyle yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (Shrick ve Inskeep 1993, Kaulfuss 1997). Buna ilave olarak embriyonik ölümlerin de in vivo ve direkt belirlenmesinde real-time ultrasonun uygun bir yöntem olduğu kabul edilmektedir. Çünkü ultrasonografik muayene ile yüksek doğrulukta erken gebelik tanısı yapılabilmekte, embriyo sayısı belirlenebilmekte ve daha da önemlisi embriyo gelişimi izlenebilmektedir (Bretzlaff ve ark. 1993, Bartlewski ve ark. 1999, Karen ve ark. 2004).

Bu çalışmada aşım sezonunda vaginal sünger uygulamasıyla östrüs senkronizasyonu yapılan koyunlarda embriyonik ölümlerin belirlenebilirliği ve insidansı araştırılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Çalışmanın materyalini Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nde bulunan en az bir doğum yapmış 2–4 yaşlı, aynı bakım ve beslenme şartlarında barındırılan, uygulama öncesi 1 hafta süreyle flushing yapılan 126 adet Konya Merinosu koyun oluşturdu.

Koyunlara aşım sezonunda (22 Ağustos–8 Eylül) progesteron esaslı östrüs senkronizasyon programı uygulandı. Senkronizasyon işlemi için ilk önce vulva ve çevresi antiseptikli suya batırılmış nemli pamukla silindi ve kurulandı. Özel bir antiseptikli krem sürülmüş ve progesteron emdirilmiş sünger tampon (40 mg florogeston asetat, Chorono-Gest/Sünger, İntervet, İstanbul) özel uygulama spekulumu vasıtasıyla vagina içerisine yerleştirilerek 12 gün vagina içerisinde kalması sağlandı. Onikinci günde süngerler çıkartılarak 500 IU PMSG (Chorono-Gest/PMSG, İntervet, İstanbul) kas içi yolla enjekte edilerek enjeksiyondan 48–60 saat sonra kontrollü olarak doğal aşım yaptırıldı (Şekil 1).



Şekil 1. Çalışmada uygulanan östrüs senkronizasyonu protokolü ve gebelik muayenesi şematığı.

Koyunların aşımından sonraki 18. günde B-model, linear array, 5–7.5 MHz rektal probu bulunan real-time ultrason (Scanner 480 Vet, Pie Data Medical, Maastrich, Netherlands) ile erken gebelik tanısı yapıldı. Koyunlar özel muayene masasına sırtüstü pozisyonda yatırılıp zaptı raptı sağlandıktan sonra, prob rektal muayene çubuğuna (3x64 cm) yerleştirilerek jelle kayganlaştırıldı. Probu rektuma girmesinden önce diğer elin orta ve işaret parmağıyla rektumdaki dışkı uzaklaştırıldı ve prob rektuma 15–20 cm sokuldu. İlk önce idrar kesesi görüntülendi ve daha sonra prob 90°-180° saat yönünde veya tersi yönde çevrilerek cornu uteriler tarandı (Şekil 2). Bu günde yapılan muayenede embriyonik vezikül/embriyo'nun görülmesi pozitif sonuç olarak değerlendirildi. Aşım sonrası 18. günde gebe olduğu belirlenen koyunlara 22, 26, 30 ve 34. günlerde olmak üzere 4 kez daha transrektal ultrasonografik muayene uygulandı (Şekil 1).

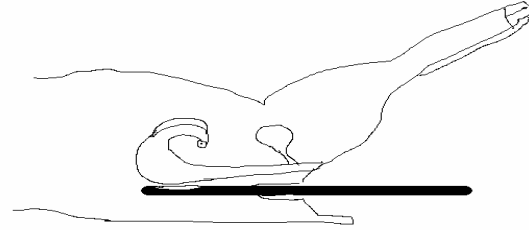
Ultrasonografik muayenelerde embriyonik ölümlere karar verilmesinde aşağıdaki kriterler dikkate alındı:

1. Önceki muayenede embriyonik vezikül/embriyo(lar) veya embriyo(lar)ın kalp atımları belirlendiği halde sonraki muayenede bu bulguların elde edilememesi,
2. Embriyonun hacminde diğer embriyolarla kıyaslandığında beklenen gelişmenin gözlenmemesi,
3. Onsekizinci ve 22. gün muayenelerinde flamatöz yapıda olan embriyonun 26. gün ve daha sonraki muayenelerde oval kompakt şekilde olmaması,
4. Embriyonal sıvının hacminde de beklenen artışın gözlenmemesi,
5. Embriyonun otolize olması,
6. Üçüz/ikiz gebelik tespit edildikten sonra

embriyo sayısında azalma olması,

7. Yavru sularının olması ancak embriyonun görülmemesi.

Çalışma bulgularının istatistiksel değerlendirilmesi amacıyla χ^2 testinden yararlanıldı.



Şekil 2. Rektal muayene çubuğunun rektuma yerleştirilmesi.

BULGULAR

Onsekizinci günde yapılan ultrasonografik muayenede 126 koyundan 111'inde gebelik belirlendi. Gebeliği belirlenemeyen veya gebeliği şüpheli hayvanlar çalışmaya dahil edilmedi. Onsekizinci günden başlayarak 34. güne kadar 5 kez ultrason muayenesi yapılan 111 gebe koyunda 191 embriyo belirlendi. Gebe koyunların 44'ü tekli, 54'ü ikiz ve 13'ü de üçüz gebeliğe sahipti (Tablo 1).

Embriyonik ölüm geçiren koyun oranı %35.1 (39/111), embriyo sayısına göre embriyonik ölüm insidansı %23.6 (45/191) olarak belirlendi. Çalışmada koyunların 11'inde (%9.9) gebelik sonlanırken (9 adet tekli, 1 adet ikiz ve 1 adet üçüz gebelikte), 28'inde (%25.2) sadece embriyo kaybı vardı ve gebelik devam etti (Tablo 1).

Tablo 1. Gebelik türüne göre gebe olduğu belirlenen koyun ve embriyo sayısı ve embriyonik ölüm sayı ve oranları.

Parametre	(n, %)	Tekli (n, %)	İkiz (n, %)	Üçüz (n, %)	Embriyonik ölüm (n, %)
Gebe koyun sayısı	111 (88.0)	44 (39.6)	54 (48.6)	13 (11.7)	39 (35.1)
Gebe olmayan koyun sayısı	15 (11.9)	-	-	-	-
Belirlenen embriyo sayısı	191	44	108	39	45 (23.6)
Embriyonik ölüm geçiren ve gebeliği sonlanan koyun sayısı	11 (9.9)	9 (8.1)	1 (0.9)	1 (0.9)	
Sadece embriyo kaybı olan koyun sayısı	28 (25.2)	-	18 (16.2)	10 (9.0)	

Embriyonik ölümlerin tekli, ikiz ve üçüz gebeliklerdeki dağılımı sırasıyla 9 (%20), 20 (%44.4) ve 16 (%35.6) olarak belirlendi. Toplam 191 embriyodaki embriyonik ölümlerin dağılımı ise %20'si (9/44) tekli, %18.5'i (20/108) ikiz ve %41'i (16/39) üçüz gebeliklerde belirlendi. (Tablo 2). Embriyonik

ölümlerin %22.2'si (10/45) 22. günde, %51.1'i (23/45) 26. günde, %22.2'si (10/45) 30. günde, %4.5'i (2/45) 34. günde yapılan muayenelerde belirlendi (Tablo 3). Embriyonik ölümler tekli gebeliklerde daha çok 22., çoğul gebeliklerde ise 26. günde yapılan muayenelerde gözlemlendi.

Tablo 2. Gebelik türüne ve belirlenen embriyolara göre embriyonik ölüm sayısı ve oranları.

Gebelik tipi	Ölüm oranı (n, %)	Toplam insidans (n, %)
Tekli	9/44 (20)	9/44 (20)
İkiz	20/108 (18.5)	20/45 (44.4)
Üçüz	16/39 (41)	16/45 (35.6)

Tablo 3. Muayene günlerine göre embriyonik ölüm sayısı ve oranları.

Günler	Embriyonik ölüm (%)
22	10/45 (22.2)
26	23/45 (51.1)
30	10/45 (22.2)
34	2/45 (4.5)

Gebeliğin sonlanması tekli gebeliklerde ikiz gebeliklere göre daha yüksek oranda gözlemlendi ($P<0.01$). Embriyonik ölüm açısından değerlendirildiğinde ise tekli ve ikiz gebelikler arasındaki farklılık önemli bulunmazken; tekli ve üçüz gebelikler ile ikiz ve üçüz gebelikler arasındaki kayıplar önemli bulundu ($P<0.05$ ve $P<0.01$).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Koyunlarda embriyonik ölümler aşım sezonu içerisinde gebeliğin şekillenmemesine veya gebe kalmanın gecikmesine ve dolayısıyla doğum sezonunun uzamasına, çoğul gebeliklerde ise yavru sayısının azalmasına; bir başka deyişle birim damızlıktan daha az sayıda kuzu elde edilmesine neden olan bir sorundur ve önemli ekonomik kayıpları oluşturur.

Koyunların transrektal real-time ultrasonla gebelik muayenesinde, hayvanın sırtüstü pozisyonda yatırılarak zaptı raprı önerilmektedir. Diğer muayene şekilleri (ayakta transrektal, transabdominal) erken gebelik muayenesi için uygun olmamaktadır (Buckrell 1988, Garcia ve ark. 1993). Transrektal muayenede diğer önemli nokta rektumda dışkının olmamasıdır. Çünkü dışkının rektum duvarı ve prob arasına girmesi, elde edilecek görüntü kalitesini düşürdüğü gibi hayvanlarda rektum hasarlarına (Dickie ve ark. 1999) da neden olmaktadır. Bunun için araştırmacılar koyunların 12 saat öncesinden aç ve susuz bırakılmalarını tavsiye etmektedirler (Garcia ve ark. 1993, Shrick ve Inskeep 1993, Kahn 1994, Kaulfuss ve ark. 1996, De Bulnes ve ark. 1998, Dickie ve ark. 1999, Doize ve ark. 1997). Sunulan çalışmada dışkının uzaklaştırılmasında Sarıbay (2005)'in önerdiği yöntem uygulandı. Bu yöntemde göre rektumun parmakla temizlenmesi işlemi yapıldı. Bu yöntemin hayvanın aç ve susuz kalmasına göre daha avantajlı olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca bu

işlemin rektumda meydana gelebilecek hasarları da önlediği kanısına varılmıştır.

Embriyonik ölüm çalışmalarında elde edilen oranlar arasında farklılıkların olduğu bilinmektedir. Bunun nedeni araştırmacılar arasında gebelik muayenesine başlama ile son muayene gününün farklı olmasına bağlanabilir. Çünkü embriyonik ölümlerin belirlenmesi ile ilgili çalışmalarda gebeliğin mümkün olduğunca erken dönemde tespit edilmesi en önemli noktadır. Embriyonik ölümleri Strmsnik ve ark. (2002) 7.5 MHz proba gebeliğin 6–37. günleri arasında %20–40, Shrick ve Inskeep (1993) 7.5 MHz proba gebeliğin 25–40. günleri arasında %11, Kaulfuss ve ark. (1996) 5 MHz frekansla gebeliğin 18–30. günleri arasında %24.6 olarak belirlediklerini bildirmektedirler. Sunulan çalışmada gebeliğin real-time ultrasonla mümkün olan en erken sürede yani gebeliğin 18. gününde belirlenmesi ve daha sonra tekrarlayan muayenelerle gebeliğin 34. güne kadar takip edilmesi sonucunda embriyonik ölüm insidansı %23.6 olarak elde edilmiştir.

Sunulan çalışmada oranın yüksek olarak elde edilmesinde bir diğer neden, çalışmada progesteron esaslı bir senkronizasyon protokolünün uygulanmış olması ve buna bağlı artan embriyo sayısının uterus tarafından desteklenememiş olması da gösterilebilir. Çünkü aynı muayene metodu ve aynı ırk koyunlarda yapılan diğer bir çalışmada (Sarıbay 2005) insidans %8.9 olarak belirlenmiştir. İki çalışma arasında yüksek bir farkın olması bazı araştırmacıların (Lunstra ve Christenson 1981, Nancarrow 1994) da belirttiği gibi senkronizasyonla embriyonik ölüm insidansının artmış olduğuna işaret etmektedir.

Koyunlarda meydana gelen embriyonik ölümlerin çoğunun 30. günden önce şekillendiği ve 30. günden sonraki kayıpların %1–4 arasında değiştiği bildirilmektedir (Bretzlaff ve ark. 1993; Nancarrow 1994, Kaulfuss ve ark. 1996, Wilkins 1997, Alosta ve ark. 1998, Strmsnik ve ark. 2002). Bu çalışmada da gebeliğin ilk 30 gününde toplam ölümlerin yaklaşık %95'i meydana gelmiştir ve bu sonuç yukarıdaki araştırmacıların belirttiği bulguları desteklemektedir. Çalışmada elde edilen bulgulara göre embriyonik ölümlerin %22.2'si (10/45) 22. günde, %51.1'i (23/45) 26. günde, %22.2'si (10/45) 30. günde, %4.5'i (2/45) 34. günde yapılan muayenelerde belirlendi. Embriyonik ölümler tekli gebeliklerde daha çok 22, çoğul gebeliklerde 26. günde yapılan muayenelerde gözlemlendi. Bunun nedeninin gebeliğin ilerlemesiyle embriyo-uterus ilişkisinin daha sağlam bir yapıya ulaşması, gelişimleri zayıf ve sorunlu embriyoların gelişimlerini sürdürememeleri olarak düşünülebilir.

Koyunlarda embriyonik ölümler, diğer hayvan türlerine göre daha farklı bir görünüm arz etmektedir. Koyunlarda çoğul gebeliğin mümkün olması, senkronizasyon veya flushingle çoğul gebelik oranının artırılması mümkündür. Sunulan çalışmada 18. günde gebelik muayenesi sonuçlarına göre 111 gebe koyunun 44'ü tekli, 54'ü ikiz ve 13'ü üçüz gebeliğe sahipti. Bu koyunların 39'unda (%35.1) embriyonik ölüm görülmesine rağmen sadece 11'inde gebelik sonlandı (%9.9) ve 28'inde (%25.2)

sadece embriyo kaybı vardı ve gebelik devam etti. Gebeliğin sonlanması tekli gebeliklerde ikiz gebeliklere göre daha yüksek oranda gözlemlendi ($P<0.01$). Bu nedenle koyunlarda embriyonik ölümler kısmi bir sorun gibi algılanabilir. Ancak toplam embriyo kaybı ele alındığında ve embriyonik ölümlerin önlenmesine yönelik girişimlerin yapılması durumunda elde edilecek yavru sayısında önemli artışların olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada embriyonik ölümlerin tekli, ikiz ve üçüz gebeliklerdeki dağılımı sırasıyla 9 (%20), 20 (%44.4) ve 16 (%35.6) olarak belirlendi. Toplam 191 embriyodaki embriyonik ölümlerin %20'sinin (9/44) tekli, %18.5'inin (20/108) ikiz ve %41'inin (16/39) üçüz gebeliklerde belirlenmiş olması bu görüşü desteklemektedir. Meydana gelen kayıplar tekli ve ikiz gebelikler arasında önemli bulunmazken; tekli ve üçüz gebelikler ile ikiz ve üçüz gebelikler arasındaki kayıplar önemli bulunmuştur ($P<0.05$ ve $P<0.01$).

Sonuç olarak; embriyonik ölüm insidansının tekli ve ikiz gebeliklerde benzer olmakla birlikte, tekli gebeliklerde gebeliğin sonlanmasının daha yüksek oranda olduğu belirlenmiştir. Bu durum çoğul gebeliklerde embriyonik ölümlerin kısmi bir sorun olduğu izlenimi vermektedir. Embriyonik ölümlerin aşım sonrası ilk 30 günlük dönemde şekillendiği dikkate alındığında, bu dönemde gebeliklerin desteklenmesinin daha fazla yavru verimiyle sonuçlanacağı kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Alosta RA, Vaughan L and Collins CD (1998) An abattoir of ovine reproductive tract in Ireland. *Theriogenology*; 50: 457-464.
- Bartlewski PM, Beard AP and Rawlings NC (1999) Ultrasonographic study of ovarian function during early pregnancy and after parturition in the ewe. *Theriogenology*; 53: 673-689.
- Bretzlaff K, Edwards T, Forrest D and Nuti L (1993) Ultrasonographic determination of pregnancy in small ruminants. *Vet. Med.*; 88: 12-24.
- Buckrell BC (1988) Application of ultrasonography in reproduction in sheep and goats. *Theriogenology*; 29: 71-84.
- De Bulnes Gonzales A, Moreno SJ and Sebastian AL (1997) Estimation of fetal development in Manchega dairy ewes by transrectal ultrasonographic measurements. *Small Rum Res*; 27: 243-250.
- Dickie AM, Paterson C, Anderson JLM and Boyd JS (1999) Determination of corpora lutea numbers in Booroola-Texel ewes using transrectal ultrasound. *Theriogenology*; 51: 1209-1224.
- Doize F, Vaillancourt D, Carabin H and Belanger D (1997) Determination of gestational age in sheep and goats using transrectal ultrasonographic

measurement of placentomes. *Theriogenology*; 48: 449-460.

- Garcia A, Neary MK, Kelly GR and Pierson RA (1993) Accuracy of ultrasonography in early pregnancy diagnosis in the ewe. *Theriogenology*; 39: 87-861.
- Kahn W (1994) "Veterinary Reproductive Ultrasonography", Mosby-Wolfe, London.
- Karen A, Szabados K, Rerczigel J, Beckers JF and Szenci O (2004) Accuracy of transrectal ultrasonography for determination of pregnancy in sheep: effect of fasting and handling of the animals. *Theriogenology*; 61 (7-8): 1291-1298.
- Kaulfuss KH, Uhlich K, Brabant S, Blume K and Strittmatter K (1996) Real-time ultrasonic pregnancy diagnosis (B-mode) in sheep. 1. Frequent examinations during the first month of pregnancy. *Tierärztliche Praxis*; 24 (5): 443-452.
- Kaulfuss KH, May J, Süß R and Moog U (1997) In vivo diagnosis of embryo mortality in sheep by real-time ultrasound. *Small Rum Res*; 24: 141-145.
- Ley WB (1985) Influence of the sire of on early embryonic loss in domestic large animals. *Compend Cont Educ Pract Vet*; 7 (4): 277-284.
- Lunstra DD and Christenson RK (1981) Fertilization and embryonic survival in ewes synchronized with exogenous hormones during the anestrus and estrous seasons. *J Anim Sci*; 553 (2): 458-466.
- Michels H, Vanmontfort D, Dewil E and Decuyper E (1998) Genetic variation of survival in relation to ovulation rate in sheep. *Small Rum Res*; 29: 129-142.
- Nancarrow CD (1994) Embryonic mortality in the ewe and doe. In "Embryonic Mortality in Domestic Species", Eds MT Zavy and RD Geisert; 79-97, Crd Press, Boca Raton.
- Sarıbay MK (2005) Koyunlarda real-time ultrasonografi ile embriyonik ölümlerin insidansının belirlenmesi, Doktora tezi, SÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Shrick FN and Inskeep EK (1993) Determination of early pregnancy in ewes utilizing transrectal ultrasonography. *Theriogenology*; 40: 295-306.
- Strmsnik L, Progacnik M, Kadun NC and Kosec M (2002) Examination of oestrus cycle and early pregnancy in sheep using transrectal ultrasonography, *Slovenian Vet Res*; 39: (1) 47-58.
- Wilkins JF (1997) Method of stimulating ovulation rate in Merino ewes may affect conception but not embryo survival. *Anim Reprod Sci*; 47: 31-42

TEŞEKKÜR

Çalışmayı maddi yönden destekleyen Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne (SÜBAP) teşekkür ederiz.

İNEKLERDE SICAKLIK STRESİNİN DÖL VERİMİNE OLUMSUZ ETKİLERİ ve BU ETKİLERİ AZALTMAK İÇİN UYGULANAN BAZI YÖNTEMLER*

(Derleme)

Mehmet KÖSE^{1*}

Tevfik TEKELİ²

The negative effects of heat stress on reproduction in cows and some methods to decrease these effects (A review)

SUMMARY

Heat stress is one of the major causes in low fertility in lactating dairy cows during summer. The functioning of various parts of reproductive system of cows exposed to heat stress is impaired. Heat stress inhibits follicular dominance during the preovulatory period and then steroid secretion of theca and granulosa cells decreases. Plasma concentration of LH decreases and FSH increases due to decreasing plasma concentration of inhibin. Progesterone secreted by luteal cells is decreased or increased. These endocrine changes reduce follicular activity and alter the ovulatory mechanism, leading to a decrease in oocyte and embryo quality. In addition to immediate effects, delayed effects of heat stress change follicular dynamics, suppress production of follicular steroids, and impair developing oocyte and embryo.

These effects of heat stress are tried to be decreased with modification of environment, estrus synchronization and fixed-time AI, embryo transfer, hormonal treatments and suitable nutritional strategies.

KEY WORDS: Cow, reproduction, heat stress.

ÖZET

Sıcaklık stresi, laktasyondaki sütçü ineklerde yaz aylarında oluşan düşük fertilitenin önemli bir nedenidir. Sıcaklık stresine maruz ineklerin reproduktif sistemlerinin farklı bölümlerinin fonksiyonları olumsuz etkilenmektedir. Sıcaklık stresi nedeniyle preovulatoör evrede folliküller dominantlık baskılanmakta, granuloza ve teka hücrelerinden üretilen steroid miktarı azalmaktadır. Plazma LH düzeyi düşmekte ve plazma inhibin düzeyinin düşmesine bağlı olarak FSH düzeyi yüksek kalmaktadır. Plazma progesteron düzeyi ise artmakta veya azalmaktadır. Bu endokrin değişiklikler oosit ve embriyo kalitesinin kötüleşmesine neden olan folliküller aktivitenin azalmasına ve ovulasyon mekanizmasında değişikliklere neden olmaktadır. Sıcaklık stresinin akut etkilerine ilave olarak gecikmiş etkileri nedeniyle folliküller dinamikler değişmekte, steroid üretimi azalmakta, bunun sonucunda oosit ve embriyo gelişimi olumsuz etkilenmektedir.

Sıcaklık stresinin döl verimi üzerine olumsuz etkileri çevrenin modifikasyonu, östrüs senkronizasyonu ve sabit zamanlı tohumlama, embriyo transferi, hormon uygulamaları ve uygun besleme stratejileri ile azaltılmaya çalışılmaktadır.

ANAHTAR KELİMELEER: İnek, döl verimi, sıcaklık stresi.

GİRİŞ

Homeoterm hayvanların optimum verim düzeylerini devam ettirebilmeleri için vücut sıcaklığı ve verimlerini zorlanmadan sürdürebildikleri konfor zonunda barındırılmaları gerekmektedir (West 2003). Sığırlar için konfor zonu aralığı 10–15 °C'dir. Fakat

gerekli şartlar sağlandığında, (-)5- (+)25 °C arasındaki sıcaklık değerleri ile ifade edilen rahatlık bölgesinde de verimlerini devam ettirebilirler. Ancak rahatlık bölgesinin altındaki ve üstündeki sıcaklık değerleri ise verimlerin önemli ölçüde düştüğü hatta durduğu fakat yaşamlarını devam ettirdikleri alt ve üst kritik sıcaklık noktalarıdır (Ertuğrul 1997). Üst

* Mehmet KÖSE'nin doktora seminerinden özetlenmiştir.

1. Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Suni Tohumlama ve Biyoteknoloji Bölümü, Konya, Türkiye

2. Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Konya, Türkiye

*E-posta: mehmetkose1977@gmail.com

kritik sıcaklığın üzerindeki çevre sıcaklıkları, homeoterm hayvanların vücut sıcaklığını normal sınırlarının üzerine çıkararak sıcaklık stresine neden olmaktadır (Ravagnolo ve ark. 2000, Jordan 2003).

Dünya üzerinde pek çok iklim bölgesi bulunmaktadır (West 2003). Bu nedenle yetiştiriciliği yapılacak hayvanın türü, ırkı ve üretim yönü (et, süt, yün, vb), yetiştiriciliğin yapılacağı bölgenin çevre ve iklim özellikleri dikkate alınarak belirlenmesi gerekmektedir. Çünkü hayvansal üretim potansiyeli; sıcaklık stresinin de içerisinde yer aldığı birçok faktör tarafından etkilenmekte ve sınırlandırılmaktadır (Boyazoğlu ve Nardone 2003). Sıcaklık stresi yılın sıcak mevsimlerde döl veriminin %20-30 oranında azalmasına neden olmaktadır (De Rensis ve ark. 2002). Ayrıca ortalama 45 günlük süre de gelişip ovule olan dominant follikülün (Lussier 1987), pre-antral folliküller gelişme evresinde olan olumsuz etkisi nedeniyle sonbahar aylarında oluşan düşük konsepsiyon (gebelik) oranından da sıcaklık stresinin sorumlu olabileceği düşünülmektedir (Wilson ve ark. 1998).

Bu derlemede sıcaklık stresinin döl verimi üzerine direkt etkilerinin oluşturduğu olumsuzluklar ve bu olumsuzlukları hafifletmek için uygulanabilecek bazı yöntemler incelenmiştir.

1. SICAKLIK STRESİNİN ETKİLERİ

Sıcaklık stresi; çevre sıcaklığı, nem, radyasyon, rüzgâr ve yağış miktarı gibi çeşitli iklim faktörlerinin ortak etkisi ile oluşmaktadır (Ravagnolo ve ark. 2000, Jordan 2003). Sıcaklık stresi pek çok faktörün etkisi ile oluşmasından dolayı etkisini değerlendirmek amacıyla pek çok formül oluşturulmuştur. Bu formüllerden yaygın olarak kullanılanlardan birisi de Steadman tarafından geliştirilmiş olan, sıcaklık ve nisbi nem oranının birlikte değerlendirildiği sıcaklık-nem indeksi (THI)'dir (Ravagnolo ve ark. 2000).

Sıcaklık stresi, hayvanların fizyolojik ve reproduktif fonksiyonlarında değişikliklere neden olmaktadır (Hansen ve Arechiga 1999). Sıcaklık stresinin reproduktif fonksiyonlar üzerine olan etkileri, direkt ve indirekt olarak ikiye ayrılmaktadır. Sıcaklık stresinin hipotalamus, ön hipofiz, uterus, follikül, oosit ve embriyo üzerine olan etkileri direkt, kuru madde alımının azalması nedeniyle metabolizmada meydana gelen değişiklikler ise indirekt etkilerini oluşturmaktadır (De Rensis ve Scaramuzzi 2003).

1.1. Östrüs siklusuna etkisi

Sıcaklık stresi ineklerde seksüel siklusların oluşumuna engel olmamakla birlikte (Imtiaz Hussain ve ark. 1992) östrüs siklusu üzerine etkilerinin incelendiği çalışmalardan elde edilen sonuçlarda farklılıklar bulunmaktadır (White ve ark. 2002). Bazı çalışmalarda siklus süresinin corpus luteumun (CL) luteolizisinin gecikmesi nedeniyle luteal evrenin uzamasına bağlı olarak arttığı (Wilson ve ark. 1998);

diğer çalışmalarda ise değişiklik olmadığı belirtilmektedir (Howell ve ark. 1994, Trout ve ark. 1998). Ancak sıcaklık stresi nedeniyle dominant follikül, düşük LH ortamında gelişmekte ve ürettiği östradiol miktarının düşmesine bağlı olarak östrüsün belirginliği azalmaktadır (Imtiaz Hussain ve ark. 1992, De Rensis ve Scaramuzzi 2003, Sönmez ve ark. 2005). White ve ark. (2002) bu durumla uyumlu olarak ilkbahar ve yaz aylarında östrüs gösteren ineklerde atlama aktivitesinin kış aylarında östrüs gösteren ineklere göre daha az olduğunu ve atlamalar arasındaki sürenin uzadığını tespit etmişlerdir. Östrüs belirtilerinde olan değişiklikler nedeniyle östrüs tespit oranları (Imtiaz Hussain ve ark. 1992) ve tohumlama sayısı azalmaktadır (De Rensis and Scaramuzzi 2003). Östrüs siklusunda oluşan bu değişikliklere rağmen ortalama östrüs-ovulasyon aralığı ve ovulatör follikülün büyüklüğünde farklılıklar oluşmamaktadır (White ve ark. 2002).

1.2. Hipotalamus, hipofiz ve ovaryum eksenine etkisi

Follikül uyarıcı hormonun (FSH) sentezi ve salınımı östradiol ve inhibin tarafından kontrol edilmektedir. Ancak inhibin kaynağı olan granuloza ve teka hücrelerinin sıcaklık stresine duyarlı olmaları nedeniyle (Wolfenson ve ark. 1997, Wolfenson ve ark. 2002) follikülerde üretilen östradiol ve inhibin düzeyi düşmektedir (Wolfenson ve ark. 1995, Wolfenson ve ark. 1997). Östradiol ve inhibin düzeyinin düşük kalması sonucu hem sıcaklık stresinin olduğu siklusta hem de takip eden siklusta FSH düzeyi yüksek kalmaktadır (Roth ve ark. 2000).

Sıcaklık stresinin periferik LH konsantrasyonu üzerine etkileri tartışmalı olmakla birlikte LH salınım sıklığı ve amplitütü azalmaktadır. Preovulatör LH salınımında oluşan düşüşlerin nedeni açık olmamakla birlikte sıcaklık stresi nedeniyle östradiol salınımının azalmasına bağlı olarak düşebileceği ifade edilmektedir (De Rensis ve Scaramuzzi 2003).

Sıcaklık stresinin progesteron hormonu üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmektedir. Bu farklılıklar adrenal progesteron salınımı, karaciğer metabolizması, hemodilüsyon veya hemokonsantrasyon, hiperterminin derecesi, sıcaklık stresinin tipi (akut veya kronik), ineğin yaşı, laktasyon dönemi ve besleme tipinden kaynaklanabilir (Trout ve ark. 1998). Serum progesteron düzeyinin sıcaklık stresinden etkilenmediğini bildiren araştırmacılar olduğu gibi (Wilson ve ark. 1998, Güzeloğlu ve ark. 2001), kronik sıcaklık stresine maruz kalmış ineklerden elde edilen granuloza ve teka hücrelerinin in vitro ortamda progesteron üretim yeteneklerinin azaldığını (Wolfenson ve ark. 2002) ve bu bulgularla uyumlu olarak serin mevsimlerde serum progesteron düzeyinin sıcak mevsimlere göre daha yüksek olduğunu bildirenler de bulunmaktadır (Howell ve ark. 1994).

1.3. Oosit ve embriyo üzerine etkisi

Sıcaklık stresinin fertilite üzerine olan olumsuz etkisi, oosit kalitesi üzerine yüksek ovaryum sıcaklığının direkt etkisinin bir sonucu olabilir (De Rensis ve Scaramuzzi 2003). Yüksek verimli laktasyondaki ineklerde fertilizasyon oranları, yüksek metabolizma ve sıcaklık stresi nedeniyle, düşmekte ve sıcak mevsimlerde anormal oosit gelişimi ve döllenmemiş oosit oranında artış olmaktadır (Sartori ve ark. 2002). Zeron ve ark. (2001), yaptıkları bir çalışmada, oositlerin morfolojilerinin mevsime bağlı olarak değiştiğini kış aylarında elde edilen oositlerde koyu bölgelerin homojen bir görünümde olduğunu buna karşılık yaz aylarında ise koyu bölgelerin görünümünde homojenitenin olmadığını tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, oositlerin görünümündeki farklılıkların oosit membranlarında ve yağ kompozisyonlarında mevsime bağlı oluşan farklılıklardan kaynaklandığını belirtmişlerdir.

Wilson ve ark. (1998), küçük folliküllerin sıcaklık stresine daha duyarlı olduklarını ve bu folliküllerin ovule olabilmesi için 42 günlük bir süreye gereksinim duyulmasının (Lussier, 1987) sonbaharın erken dönemlerinde oluşan fertilite düşüklüğünün nedeni olabileceğini belirtmişlerdir. Yapılan çalışmalarda kış aylarında ovaryumlardan elde edilen oosit sayısının yaz mevsimine göre daha fazla olduğu, in vitro ortamda elde edilen embriyoların bölünme oranlarında farklılık olmamasına rağmen blastost evresine ulaşma oranlarının yaz aylarında düştüğü tespit edilmiştir (Al-Katanani ve ark. 2002, Zeron ve ark. 2001).

Embriyolar geliştikçe sıcaklık stresi nedeniyle kaybolacak hücre fraksiyonlarını tolere edecek düzeyde çok hücreye sahip olmakta veya sıcaklık stresinden koruyan biyokimyasal mekanizmalar geliştirmektedir (Edwards ve Hansen 1996). Ryan ve ark. (1992a), in vitro ortamda akut sıcaklık stresine maruz kalan morula evresindeki embriyolarda heat shock proteinlerinin üretilmesiyle stresin etkilerinin tolere edilebileceğini belirtmişlerdir. Ancak kronik sıcaklık stresinin embriyolarda sarkma evresinden (hatch) sonra embriyoların gelişimini olumsuz etkilediğini belirtmişlerdir. Bahsedilen iki mekanizma sayesinde embriyolar geliştikçe sıcaklık stresine karşı daha fazla direnç kazanmaktadır (Ealy ve ark. 1995, Edwards ve Hansen 1997).

Sıcaklık stresinin uterus endometriumdan PGF_{2α} üretimini ve salınımını arttırmak suretiyle gebeliğin kabulü ve CL'un varlığını sürdürmesini olumsuz etkilediği belirtilmektedir (Wolfenson ve ark. 2002). Garcia-Ispuerto ve ark. (2006), peri-implantasyon döneminde oluşan akut sıcaklık stresinin erken embriyonik ölüm oranında artışa neden olduğunu belirtmişlerdir. Putney ve ark. (1988), in vitro ortamda sıcaklığının 39 °C'den 43 °C'ye çıkarıldığında endometriumdan PGF_{2α} salınımının %1255 oranında arttığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar PGF_{2α} salınımındaki bu artışın in vivo ortamda gebeliğin devamından sorumlu olan endometrial biyokimyasal

faktörler ve konseptus arasındaki düzenlemenin bozulmasına yol açabileceğini belirtmişlerdir.

1.4. Folliküler gelişim üzerine etkisi

Sıcaklık stresi nedeniyle luteolizis olayının gecikmesi sonucu seksüel siklusun uzamasına bağlı olarak oluşan folliküler dalga sayısı artmaktadır (Wilson ve ark. 1998). Folliküller dinamiklerde sıcaklık stresi nedeniyle oluşan değişiklikler akut ve gecikmiş etkiler olmak üzere iki yönden incelenmektedir. Akut etki, dominant follikülün baskınlığını kaybetmesidir. Folliküler dominantlığın baskılanması nedeniyle sub-ordinal folliküllerin sayısında artış oluşmakta (Roth ve ark. 2000) ve sonraki dalganın dominant follikülü daha erken ortaya çıkarmaktadır (Wolfenson ve ark. 1995). Bu etki plazma immun reaktif inhibin düzeyinin azalması sonucu oluşmaktadır. Gecikmiş etki ise sıcaklık stresinin olduğu östrüs siklusunda küçük folliküllerin olumsuz etkilenmeleri nedeniyle takip eden sıklusta FSH düzeyi yüksek olmasına rağmen orta büyüklükteki folliküllerin sayısında azalmaya olmaktadır (Roth ve ark. 2000). Sıcaklık stresinin gecikmiş etkileri orta büyüklükteki follikülerde granuloza hücrelerinde düşük östradiol üretimine ve preovulatr folliküllerde bu hücrelerin yaşama yeteneklerinin azalmasına neden olmaktadır. Bu durum ise oosit kalitesi ve embriyo gelişimini olumsuz etkilemektedir (Roth ve ark. 2001a).

Wolfenson ve ark. (1995), sıcaklık stresi nedeniyle folliküler dinamiklerde meydana gelen değişikliklerin iki önemli sonucu olduğunu belirtmişlerdir. Birincisi, II. folliküler dalganın dominant follikülünün daha erken ortaya çıkması ve bu follikülün ovule olması durumunda, siklusun östrüs ve ovulasyon zamanının değişmemesi nedeniyle yaşlı bir follikülün ovule olmasıdır. İkincisi, inhibin düzeyinin düşük kalması nedeniyle FSH salınımı baskılanmadığı için I. folliküler dalga sırasında dominant follikül baskınlığını kaybetmekte ve sub-ordinal folliküler gelişimine devam etmektedir. Bu nedenle dominant follikülün gelişimi olumsuz etkilenmektedir.

2. SICAK STRESİNİN OLUMSUZ ETKİLERİNİ AZALTMAK İÇİN UYGULANAN BAZI YÖNTEMLER

Çiftlik hayvanlarında vücut ısısının belli bir düzeyde tutulmasına termoregülasyon denir. Termoregülasyon, üretilen ve kaybedilen ısı miktarları arasındaki dengeyi ifade etmektedir. Vücudun ısı kazanımı, metabolizma ve çevre olmak üzere iki yolla olmaktadır. Çevreden kazanılan ısı, direkt ve indirekt yolla olmak üzere güneş radyasyonundan kaynaklanmaktadır. Hayvanlar direkt gün ışığı aldıklarında solar radyasyona maruz kalırlar. İndirekt yolla ısı kazanımı ise çevredeki nesnelere yayılan ısı radyasyonu aracılığı ile

olmaktadır. Vücuttan ısı kaybı ısının çeşitli iletim yolları olan radyasyon, kondüksiyon, konveksiyon ve evaporasyonun yanında metabolizmanın ürünü olan süt çıkışı, defekasyon ve ürinyasyon ile olmaktadır (Bearden ve ark. 2004).

Kazanılan ve kaybedilen ısı arasındaki denge kazanılan ısı lehine bozulduğunda sıcaklık stresi oluşmaktadır. Sıcaklık stresinin olumsuz etkilerini hafifleterek verimliliğin devamının sağlanması amacıyla çevrenin modifikasyonu, besleme, çeşitli sürü reproduktif programları gibi planlamalar yapılmaktadır.

2.1. Çevrenin modifikasyonu

Gölgelendirme, sıcak iklimlerde sütçü inekleri direkt veya indirekt ısı radyasyondan korumak için alınan basit önlemlerin başında gelmektedir (West 2003). Gölgelendirme amacıyla ağaçlar, çalı türü bitkiler ve palmye ağaçlarının dalları kullanılabilir. Gölgelendirmenin daha verimli olması amacıyla çeşitli malzemelerden inşa edilen sabit yapılar da kullanılmaktadır. Metal çatıların üst yüzeylerinin beyaz renkte boyanması ve alt yüzeylerinin ısı izolasyon malzemeleriyle kaplanması ineklere direkt olarak ulaşan ısı radyasyon miktarını azaltmaktadır (Armstrong 1994).

Sütçü inekler için hayvan başına hesaplanan gölgelendirme alanı, iklim ve bölgelere göre değişmektedir. Laktasyondaki inekler için 3.5-4.5 baş/m² alan hesaplanmaktadır. İnek başına düşen gölgelendirme alanının düşük olması özellikle meme yaralanmalarını artırırken, 4.5 m²'den fazla olması ise ineklerin birlikte hareket etme eğilimlerinden dolayı gölgelendirmenin verimliliğini azaltmaktadır. İneklere ulaşan radyasyonun en düşük düzeyde olması için gölgelendirmenin yüksekliğinin 3.5-4.5 m olması gerekmektedir (Armstrong 1994).

Sürü idaresi geniş çayırılık alanlarda yapılıyorsa hem ineklerin temiz kalması hem de gölgelendirme altında kalan bitki örtüsünün tahrip olmaması için portatif gölgelendirmelerin kullanılması gerekmektedir (Armstrong 1994).

Fan ile serinletme hayvanların rektal ısılarının düşmesine, geceleri normal vücut sıcaklığına daha kısa süre de düşmesine yardımcı olmakta (Younas ve ark. 1993) ve gebelik oranını arttırmaktadır (Ealy ve ark. 1994).

Hayvanların üzerindeki nemli hava kitlesinin, hava sirkülasyonu ile uzaklaştırılması esasına dayanan evaporasyonla serinletme özellikle mekanik evaporatif serinleticilerin yeterli olmadığı nemli bölgelerde daha verimli olmaktadır (Bearden ve ark. 2004). Gölgelendirmeye birlikte uygulandığında etkinliği daha da artmaktadır (Tarazon-Herrera ve ark. 1999). Ryan ve ark. (1992b), kuru ve sıcak bir iklimi olan Suudi Arabistan'da evaporasyonla ve sprey-fan ile serinletme sistemini karşılaştırmış ve evaporasyonla serinletilen gruptaki ineklerde doğum sonrası postpartum sürecin daha hızlı tamamlandığını ve postpartum 60. günde normal

reproduktif fonksiyonları başlayan inek oranının daha fazla olduğunu belirlemiştir.

2.2. Östrüs senkronizasyonu ve sabit zamanlı tohumlama

Sıcak mevsimlerde östrüs şiddetinin ve atlama aktivitesinin azalmasına bağlı olarak gözleme dayalı östrüs tespit oranları düşmektedir. Bu nedenle büyük sürülerde tek östrüs tespit yöntemi yerine iki veya daha fazla yöntemin birleştirilmesi gerekmektedir (Peralta ve ark. 2005).

İlkbahar ve yaz aylarında doğum yapan ineklerde yeniden gebe kalma aralığı ve gebelik başına yapılan tohumlama sayısı sonbahar ve kış mevsimlerinde doğum yapanlara göre daha yüksek olmaktadır. Sıcaklık stresinin döl verimi üzerindeki olumsuz etkilerini azaltılması için buzağılama mevsiminin toplulaştırılması amacıyla östrüs senkronizasyon yöntemleri uygulanabilmektedir (Ray ve ark. 1992).

Yaz aylarında özellikle yüksek verimli hayvanlarda östrüs tespit oranının düşmesi, gebelik oranlarının düşmesine neden olmaktadır. Sabit zamanlı tohumlama yöntemlerinde östrüs tespitine gerek kalmadan tohumlama yapılabildiğinden sıcaklık stresinin östrüs tespit oranı üzerine olumsuz etkisini sabit zamanlı tohumlama yöntemleri ile ortadan kaldırmak mümkün olmaktadır (De la Sota ve ark. 1998). Bu amaçla ovulasyonların senkronize edildiği sabit zamanlı tohumlama yöntemleri geliştirilmiştir (Jordan 2003).

Sıcaklık stresine maruz kalan ineklere uygulanan sabit zamanlı tohumlama programlarında, ilk tohumlamalarda elde edilen gebelik oranları arasında fark oluşmazken sonraki tohumlamalar dikkate alındığında birim zamanda oluşan gebelik oranı daha fazla olmaktadır (Arechiga ve ark. 1998, De Rensis ve ark. 2002), boş gün sayısı azalmakta ve elde edilen kazanç artmaktadır (De la Sota ve ark. 1998).

Jordan ve ark. (2002), sıcak aylarda fan ve duş yöntemi ile serinletilen ineklerde modifiye hedef tohumlama (MTB) ve ovsynch yöntemini postpartum (PP) 60. günde uygulamışlar ve MTB yönteminin östrüs tespit oranını yüksek olduğu sürülerde gebelik oranlarını yükselttiğini belirtmişlerdir. Ancak östrüs göstermeyen ineklerde gebelik oranı MTB grubunda düşerken, ovsynch grubunda yükselmiştir. Bu sonuçlar, sıcaklık stresine maruz ineklerde MTB protokolü uygulandığında östrüsün dış belirtilerinin azalması nedeniyle östrüs tespit oranının düşmesine bağlı olarak gebelik oranının düşeceği ihtimalinin göz önünde bulundurulması gerektiğini göstermektedir.

2.3. Embriyo transferi

Sıcaklık stresine maruz kalan ineklerde östrüs süresinin kısalması ve yoğunluğunun düşmesi nedeni ile östrüslerin %80'i belirlenememektedir. Ancak gebelik oranı, östrüs tespit oranı ve konsepsiyon oranına bağlıdır. Sabit zamanlı embriyo transferi protokolünde embriyolar sıcaklık stresine

daha dayanıklı oldukları morula veya blastosist evresinde transfer edildiğinden sıcak yaz aylarında elde edilen gebelik oranları artmaktadır (Ambrose ve ark. 1999). Ayrıca suni tohumlama uygulamalarında çeşitli çevresel stres faktörlerinin ineklerde neden olduğu anovulasyona bağlı fertilité kayıplarında, embriyo transferi öncesi CL varlığının tespit edilmesiyle engellenmektedir (Vasconceles ve ark. 2006).

Sıcaklık stresinin olduğu dönemlerde embriyo transferinden elde edilen gebelik oranı suni tohumlamaya göre yüksek olmaktadır. Fakat embriyo transferi uygulamasının ticari olarak yaygınlaşmasına engel olabilecek nedenleri şu şekilde sıralamak mümkündür:

1) Donör olarak düveler kullanıldığında bu hayvanların ilk doğumlarının gecikmesine bağlı olarak süt üretimi düşmektedir,

2) Embriyo transferi uygulamasında nitelikli eleman ve uygulama için farklı malzemeler gerekmektedir ki bu da gebelik başına maliyeti arttırmaktadır,

3) Dondurulmuş embriyolar açısından sadece in vivo olarak elde edilerek dondurulan embriyoların transferinde suni tohumlamaya göre daha fazla gebelik elde edilmektedir,

4) Ancak in vitro embriyo üretimini maliyeti in vivo yöntemle embriyo üretimine göre daha düşüktür. In vitro üretilen embriyolar taze olarak transfer edildiğinde daha fazla gebelik elde edilmektedir. Bunun da saha şartlarında uygulanması mümkün değildir (Rutledge 2001).

2.4. Hormon uygulamaları

Sıcaklık stresinin CL'un fonksiyonunu olumsuz etkileyerek progesteron düzeyinin düşmesine ve embriyonun yaşama gücünün azalmasına neden olabileceğinden ineklerde luteal dokunun artırılması amacıyla GnRH ve analogları yaygın olarak kullanılmaktadır. Ullah ve ark. (1996) östrüsteki ineklerde GnRH uygulamasının oluşturduğu uyarıcı etki ile CL tarafından üretilen progesteron miktarının arttığını ve bu ineklerde gebelik oranının daha fazla olduğunu belirtmişlerdir. Willard ve ark. (2003) sıcaklık stresindeki sütçü ineklerde tohumlama sonrası 5 ve 11. günlerde GnRH uygulamasının aksesor CL sayısını ve luteal dokunun yüzeyini arttırdığını ve sonucunda kan progesteron düzeyini ve gebelik oranını arttığını bildirmişlerdir. Benzer şekilde Lopez-Gatius ve ark. (2006), yaptıkları çalışmada tohumlama anında ve 12. gün GnRH uygulaması yaptıkları çalışmada gebelik oranı ve aksesor CL sayısının arttığını tespit etmişlerdir.

Roth ve ark. (2001b) yaptıkları çalışmanın sonucunda çeşitli hormon uygulamaları ile bir siklusta oluşan folliküller dalga sayısının artırılması ile ovaryumlardaki sıcaklık stresinden zarar görmüş folliküllerin hızlı bir şekilde bertaraf edilerek sıcaklık stresinin gecikmiş etkilerinin daha kısa sürede ortadan kaldırılabilceğini belirtmişlerdir.

2.5. Besleme

Sıcaklık stresi hayvanlarda iştahsızlık sonucu kuru madde alımının düşmesine neden olmaktadır. Bu nedenle sıcaklık stresine maruz bölgelerde özellikle laktasyon evresindeki ineklerin rasyonlarının düzenlenmesi ve rasyondaki besin maddesi konsantrasyonunun artırılması gerekmektedir. Bu artış genellikle protein düzeyinin artırılmasına yönelik olmaktadır. Ancak rasyonda protein düzeyinin artması hem yem maliyetinin artmasına hem de fazla miktarda azot (N) alımı aşırı miktarda ısı üretilmesine neden olduğundan vücut enerjisinin verim yönünde kullanılmasına engel olmaktadır (West 2003).

Rasyondaki protein miktarının artırılmasının getirdiği olumsuzlukları azaltmak ve maliyetin düşürülmesi açısından sıcak bölgelerde rasyonun protein kalitesinin artırılması kritik derece de önemli olabilir. Rasyonun protein kalitesi artırılarak beraberinde serinletme uygulandığında süt sentezi için gerekli esansiyel aminoasitlerin barsak emiliminin artması sonucu süt verimi artmaktadır (Chen ve ark. 1993). Hatta yeterli serinletme uygulandığında amonyağın üreye dönüştürülmesi için daha az enerji harcanması ve enerji temini için harcanan protein miktarının azalması nedeniyle ham protein oranının artırılmasına da gerek kalmamaktadır (Chen ve ark. 1993, Arieli ve ark. 2004).

Sıcaklık stresini azaltmak için uygulanabilecek diğer bir besleme uygulaması olarak, diğer besinlere göre daha fazla enerji sağlanması ve düşük ısı artışına neden olduğundan rasyonlara yağ ilave edilmesi düşünülmüştür. Ancak rasyona yağ ilavesi tek başına süt verimi artışı için yeterli olmayıp beraberinde serinletme de yapılması gerekmektedir (Knapp ve Grummer 1991).

Sıcaklık stresinin neden olduğu serbest radikaller erken dönemdeki embriyo gelişimini olumsuz etkilemektedir. Edwards ve Hansen (1997) ortama glutation sentezini inhibe eden butionin sülfoksiminin ilave edildiğinde blastosist evresine ulaşan embriyo oranının azaldığını bildirmişlerdir. Bununla birlikte memeli hücrelerinde ise serbest radikalleri etkisiz duruma getiren pek çok antioksidant sistemi bulunmaktadır. Bu nedenle sıcaklık stresinin oosit ve embriyonik dönemde olan etkilerinin azaltılması amacıyla rasyonlara çeşitli antioksidantların katıldığı çalışmalar da yapılmaktadır. Ealy ve ark. (1994), sıcaklık stresindeki ineklerde tohumlama esnasında vitamin E uygulamasının, Paula-Lopez ve ark. (2003)'da buzağılama öncesi ve sonrası Vitamin E ve selenyum uygulamalarının gebelik oranı üzerine olumlu bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Bu çalışmaların aksine Arechiga ve ark. (1998), yaz aylarında rasyona uzun süreli (90 günden fazla) β -karoten ilavesinin, ovidukt ve uterus dokularında β -karoten yoğunluğunu artırarak embriyoları serbest radikallerden koruyacak düzeyde ulaşmasını sağladığını ve gebelik oranını arttırdığını belirtmişlerdir. Çalışmalarda elde edilen sonuçların

farklı olması rasyonun vitamin E ve selenyum düzeyi, uygulanan antioksidanların uygulama dozu, metodu süresinde olan farklılıklardan kaynaklanabilir (Paula-Lopez ve ark. 2003).

SONUÇ

Çevresel stres faktörlerinden biri olan sıcaklık stresinin özellikle laktasyondaki yüksek verimli sütçü ineklerde hem süt verimini hem de döl verimini olumsuz etkilediği yapılan birçok araştırma ile kanıtlanmıştır. Sıcaklık stresinin çeşitli yollarla neden olduğu olumsuz etkilerinin modern serinletme sistemleri, bilimsel besleme stratejileri ve modern sürü idaresi (döl verimi açısından östrüs senkronizasyonu, embriyo transferi, in vitro fertilizasyon vb.) anlayışı ile hafifletilmesi yoluyla yaz aylarında fertilité oranlarındaki düşüş azaltılabilir.

KAYNAKLAR

- Al-Katanani YM, Paula-Lopes FF, Hansen PJ (2002) Effect of season and exposure to heat stress on oocyte competence in holstein cows. *J Dairy Sci*; 85: 390–396.
- Ambrose JD, Drost M, Monson RL, Rutledge JJ, Leibfried ML, Rutledge S, Thatcher MJ, Kassa T, Bineli M, Hansen PJ, Chenoweth PJ, Thatcher WW (1999) Efficacy of timed embriyo transfer with fresh and frozen in vitro produced embryos to increase pregnancy rates in heat-stressed dairy cattle. *J Dairy Sci*; 82: 2369–2376.
- Arechiga CF, Staples CR, McDowell LR, Hansen PJ (1998) Effects of timed insemination and supplemental β -carotene on reproduction and milk yield of dairy cows under heat stress. *J Dairy Sci*; 81: 390–402.
- Arieli A, Adin G, Bruckental I (2004) The effect of protein intake on performance of cows in hot environmental temperatures. *J Dairy Sci*; 87: 620–629.
- Armstrong DV (1994) Heat stress interaction with shade and cooling. *J Dairy Sci*; 77: 2044–2050.
- Bearden HJ, Fuquay JW, Willard ST (2004) Environmental Management (Alınmıştır) "Applied animal Reproductio. 338-347 Pearson Education. New Jersey.
- Boyazoğlu J, Nardone A (2003) The relationship between environment and animal production. *Arch. Latinoam. Prod. Anim*; 11(1): 57–64.
- Chen KH, Huber JT, Theurer CB, Armstrong DV, Wanderley RC, Simas JM; Chan SC, Sullivan JL (1993) Effect of protein quality and evaporative cooling on lactational performance of Holstein cows in hot weather. *J Dairy Sci*; 76, 819–925.
- De La Sota RL, Burke JM, Moreira F, DeLorenzo MA, Thatcher WW (1998) Evaluation of timed insemination during summer heat stress in lactating dairy cattle. *Theriogenology*; 49: 761–770.
- De Rensis F, Marconi P, Capelli T, Gatti F, Facciolo F, Franzini S, Scaramuzzi RS (2002) Fertility in postpartum dairy cows in winter or summer following estrus synchronization and fixed time AI after the induction of an LH surge with GnRH or hCG. *Theriogenology*; 58: 1675–1687.
- De Rensis FD, Scaramuzzi RJ (2003) Heat stress and seasonal effects on reproduction in dairy cow. *Theriogenology*; 60: 1139–1151.
- Ealy AD, Arechiga CF, Bray DR, Risco CA, Hansen PC (1994) Effectiveness of short-term cooling and vitamin e for alleviation of infertility induced by heat stress in dairy cows. *J Dairy Sci*; 77: 3601–3607.
- Ealy AD, Howell JL, Monteroso VH, Arechiga CF, Hansen PJ (1995) Developmental changes in sensitivity of bovine embryos to heat shock and use of antioxidants as thermoprotectants. *J Anim Sci*; 73: 1401–1407.
- Edwards JL, Hansen PJ (1996) Elevated temperature increases heat shock protein 70 synthesis in bovine two-cell embryos and compromises function of maturing oocytes. *Biology of Reproduction*; 55: 340–346.
- Edwards JL, Hansen PJ (1997) Differential responses of bovine oocytes and preimplantation embryos to heat shock. *Molecular Reproduction and Development*; 46: 138–145.
- Ertuğrul M (1997) Sığır Yetiştiriciliği. "Alınmıştır". Hayvan Yetiştirme". Ed. M Ertuğrul. Baran Ofset. Ankara.
- Garcia-Ispuerto I, Lopez-Gatius F, Santolaria P, Yaniz JL, Nogareda C, Lopez-Bejar M, De Rensis F (2006) Relationship between heat stress during the peri-implantation period and early fetal loss in dairy cattle. *Theriogenology*; 65: 799–807.
- Güzeloğlu A, Ambrose JD, Kassa T, Diaz T, Thatcher MJ, Thatcher WW (2001) Long-term follicular dynamics and biochemical characteristics of dominant follicles in dairy cows subjected to acute heat stress. *Animal Reproduction Science*; 66: 15–34.
- Hansen PJ, Arechiga CF (1999) Strategies for managing reproduction in the heat-stressed dairy cow. *J Dairy Sci*; 82: 36–50.
- Howell JL, Fuquay JW, Smith AE (1994) Corpus luteum growth and function in lactating Holstein cows during spring and summer. *J Dairy Sci*; 77: 735–739.
- Imtiaz Hussain SM, Fuquay JW, Younas XX (1992) Estrous cyclicity in nonlactating and lactating holsteins and jerseys during a Pakistani summer. *J Dairy Sci*; 75: 2968–2975.
- Jordan ER, Schouten MJ, Quast JW, Belschner AP, Tomaszewski MA (2002) Comparison of two timed artificial insemination (tai) protocols for management of first insemination postpartum. *J Dairy Sci*; 85: 1002–1008.
- Jordan (2003) Effects of heat stress on reproduction. *J Dairy Sci*; 86; 104–114.
- Knapp DM, Grummer RR (1991) Response of lactating dairy cows to fat supplementation during heat stress. *J Dairy Sci*; 74: 2573–2579.
- Lopez-Gatius F, Santolaria P, Martino A, Dele'ang F, De Rensis F (2006) The effects of GnRH treatment at the time of AI and 12 days later on reproductive performance of high producing dairy cows during the warm season in Northeastern Spain. *Theriogenology*, 820–830.
- Lussier JG, Matton P, Dufour JJ (1987) Growth rates of follicles in the ovary of the cow. *Journal of Reproduction and Fertility*; 81: 301–307.

- Paula-Lopez FF, Al-Katanani YM, Majewski AC, McDowell LR, Hansen PJ (2003) Manipulation of antioxidant status fails to improve fertility of lactating cows or survival of heat-shocked embryos. *J Dairy Sci.*; 86:2343-2351.
- Peralta OA, Pearson RE, Nebel RL (2005) Comparison of three estrus detection systems during summer in a large commercial dairy herd. *Animal Reproduction Science*; 87: 59–72.
- Putney DJ, Malayer JR, Gross TS, Thatcher WW, Hansen PJ, Drost M (1988) Heat stress-induced alterations in the synthesis and secretion of proteins and prostaglandins by cultured bovine conceptus and uterine endometrium. *Biology of Reproduction*; 39: 717–728.
- Ravagnolo O, Misztal I, Hoogenboom G (2000) Genetic component of heat stress in dairy cattle, development of heat index function. *J Dairy Sci*; 83: 2120–2125.
- Ray DE, Halbach TJ, Armstrong DV (1992) Season and lactation number effects on milk production and reproduction of dairy cattle in Arizona. *J Dairy Sci*; 75: 2976–2983.
- Roth Z, Meidan R, Braw-Tal R, Wolfenson D (2000) Immediate and delayed effects of heat stress on follicular development and its association with plasma FSH and inhibin concentration in cows. *Journal of Reproduction and Fertility*; 120: 83–90.
- Roth Z, Meidan R, Shaham-Albalancy A, Braw-Tal R, Wolfenson D (2001a) Delayed effect of heat stress on steroid production in medium-sized and preovulatory bovine follicles. *Journals of Reproduction and Fertility*; 121: 745–751.
- Roth Z, Arav A, Bor A, Zeron Y, Braw-Tal R, Wolfenson D (2001b) Improvement of quality of oocytes collected in the autumn by enhanced removal of impaired follicles from previously heat-stressed cows. *Journals of Reproduction and Fertility*; 122: 737–744.
- Rutledge J (2001) Use embryo transfer and ivf to bypass effects of heat stress. *Theriogenology*; 55: 105–111.
- Ryan DP, Blakewood EG, Lynn JW, Munyakazi L, Godke RA (1992a) Effect of heat-stress on bovine embryo development in vitro. *J Anim Sci*; 70: 3490–3497.
- Ryan DP, Boland MP, Kopel E, Armstrong D, Munyakazi L, Godke RA, Ingraham RH (1992b) Evaluating two different evaporative cooling management systems for dairy cows in a hot, dry climate. *J Dairy Sci*; 75: 1052–1059.
- Sartori R, Sartor-Bergfeldt R, Mertens SA, Guenther JN, Parrish JJ, Wiltbank MC (2002) Fertilization and early embryonic development in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. *J Dairy Sci*; 85: 2803–2813.
- Sönmez M, Demirci E, Türk G, Gür S (2005) Effect of season on some fertility parameters of dairy and beef cows in Elazığ province. *Türk J Vet Anim Sci*; 29: 821–828.
- Tarazon-Herrera M, Huber JT, Santos J, Mena H, Nusso L, Nussio XX (1999) Effects of bovine somatotropin and evaporative cooling plus shade on lactation performance of cows during summer heat stress. *J Dairy Sci*; 82: 2352–2357.
- Trout JP, McDowell LR, Hansen PJ (1998) Characteristics of the estrous cycle and antioxidant status of lactating Holstein cows exposed to heat stress. *J Dairy Sci*; 81: 1244–1250.
- Ullah G, Fuquay JW, Keawkhong T, Clark BL, Pogue DE, Murphey J (1996) Effect of gonadotropin-releasing hormone at estrus on subsequent luteal function and fertility in lactating Holsteins during heat stress. *J Dairy Sci*; 79: 1950–1953.
- Vasconceles JLM, Demetrio DGB, Santos RM, Chiari JR, Rodrigues CA, Sa Filho OG (2006) Factors potentially affecting fertility of lactating dairy cow recipients. *Theriogenology*, 65: 192–200.
- West JW (2003) Effects of heat stress on production in dairy cattle. *J Dairy Sci*; 86: 2131–2144.
- White FJ, Wettemann RP, Looper ML, Prado TM, Morgan GL (2002) Seasonal effects on estrous behavior and time of ovulation in nonlactating beef cows. *J Anim Sci*; 80: 3053–3059.
- Willard S, Gandy S, Bowers S, Graves K, Elias A, Whisnant C (2003) The effects of GnRH administration postinsemination on serum concentrations of progesterone and pregnancy rates in dairy cattle exposed to mild summer heat stress. *Theriogenology*; 59: 1799–1810.
- Wilson SJ, Marion RS, Spain JN, Spiers DE, Keisler DH, Lucy MC (1998) Effects of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle. 1. Lactating cows. *J Dairy Sci*; 81: 2124–2131.
- Wolfenson D, Thatcher WW, Badinga L, Savio JD, Meidan R, Lew BJ, Braw-Tal R, Berman A (1995) Effect of heat stress on follicular development during the estrous cycle in lactating dairy cattle. *Biology of Reproduction*; 52: 1106–1113.
- Wolfenson D, Lew BJ, Thatcher WW, Graber Y, Meidan R (1997) Seasonal and acute heat stress effects on steroid production by dominant follicles in cows. *Animal Reproduction Science*; 47: 9–19.
- Wolfenson D, Sonogo H, Bloch A, Shaham-Albalancy A, Kaim M, Folman Y, Meidan R (2002) Seasonal differences in progesterone production by luteinized bovine thecal and granulosa cells. *Domestic Animal Endocrinology*; 22: 81–90.
- Younas M, Fuquay JW, Smith AE, Moore AB (1993) Estrous and endocrine responses of lactating Holsteins to forced ventilation during summer. *J Dairy Sci*; 76: 430–436.
- Zeron Y, Ocheretny A, Kedar O, Borochoy A, Sklan D, Arav A (2001) Seasonal changes in bovine fertility: relation to developmental competence of oocytes, membrane properties and fatty acid composition of follicles. *Journals of Reproduction and Fertility*; 121: 447–454.

KÖK HÜCRE ÇALIŞMALARI VE TERAPÖTİK KLONLAMA

(Derleme)

Oktay YILMAZ¹

Mehmet UÇAR^{1*}

Stem cell researches and therapeutic cloning (A review)

SUMMARY

In this review, it was aimed to give information on both the stem cell researches and therapeutic cloning.

Stem cells are the cells which have self-renewal property and differentiation potential into other cell types. Cloning can be described as the process of propagating a set of particular piece of DNA, genes and cells or production of the genetically identical individuals. Self-renewal and differentiation potential of stem cells into other cells have been used to consider for therapeutic aids.

It is extremely clear that the cloning and stem cell technologies are important research subjects. Although all this progression, it is still needed much more studies on these subjects.

KEY WORDS: Stem cell, therapeutic cloning.

ÖZET

Bu derlemede kök hücre çalışmaları ve terapötik klonlama ile ilgili bilgilerin aktarılması amaçlandı.

Kök hücreler, kendilerini yenileme ve farklı hücre tiplerine farklılaşabilme yeteneğine sahip hücrelerdir. Klonlama da DNA parçalarının, genlerin ve hücrelerin ya da orijinalinin aynısı bireylerin üretimi olarak tanımlanabilmektedir. Kök hücrelerin kendilerini yenileme potansiyelleri ve çeşitli hücre tiplerine farklılaşabilmeleri, değişik kök hücre kaynaklarından elde edilebilen bu hücrelerin tedavide kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Klonlama ve kök hücre teknolojilerinin insan ve hayvan sağlığı açısından önemli araştırma konuları olduğu gayet açıktır. Bütün bu ilerlemelere rağmen bu konular hakkındaki araştırmaların daha da fazla yoğunlaşması gerekmektedir.

ANAHTAR KELİMELEER: Kök hücre, terapötik klonlama.

GİRİŞ

Günümüze kadar olan süreçte klonlama ve kök hücre teknolojileri hakkındaki tüm gelişmelere, hem bilim çevreleri hem de sosyal kuruluşlar oldukça ilgi göstermişlerdir. Yapılan pek çok çalışma ve halen devam eden araştırmalar bu iki teknolojinin insan ve hayvan sağlığı açısından ne kadar önemli olduğunu ortaya koymuş durumdadır. Her iki teknoloji çoğu zaman birbirlerinden farklı gelişimler göstermiş olsalar da günümüzde birbirlerini tamamlayan bir hal almışlardır.

Ondokuzuncu yüzyıldan bu yana gelişim gösteren klonlama teknolojisindeki ilerlemeler devam ederken kök hücreler hakkındaki çalışmalar da aynı şekilde bir gelişim göstermiştir. Kök hücre araştırmalarının gelişim süreci memeli yumurtalarını

vücut dışında (in vitro ortamda) fertilize etme girişimleriyle 1878 yılında başlamıştır. 1959 yılında ise in vitro fertilizasyon ile ilk hayvan (tavşan) elde edilmesi (Trounson ve ark. 2000), 1960 yılında da farelerde şekillenen teratokarsinomların embriyonik germ hücrelerinden kaynaklandığının ortaya konulması (Friedrich ve ark. 1983) araştırmalara ivme kazandırmıştır.

Downing ve Battey (2004), implantasyonun son evresindeki fare embriyolarının pluripotent hücreler (her dokuya dönüşebilme özelliği olan hücreler) içerdiğinin tespit edilmiş olmasına rağmen, bu hücrelerin in vitro ortamda kültüre etme girişimlerinin başarısızlıkla sonuçlandığını belirtmektedirler. Embriyo gelişimi için hücre hatlarının kullanılması çalışmalarındaki in vitro sistemler in vivo koşullarda oluşturulan teratokarsinomlardan sağlanabilmektedir.

1. AKÜ, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, AFYONKARAHİSAR

*E-posta: mucar@aku.edu.tr

Bu teratokarsinom hücre hatlarının pluripotent embriyonik kök hücrelerle (EKH) pek çok morfolojik, biyokimyasal ve immünolojik özellikleri paylaştığı fakat kültüre edilme girişimlerinde transformasyona ve karyotipik değişikliklere uğradığının belirlendiği bildirilmektedir (Downing ve Battey 2004).

Teratokarsinom hücre hatları hakkında 1981 yılında kazanılan deneyimler neticesinde implantasyonun son evresindeki embriyoların ektopik bölgelere transferinin pluripotent kök hücreleri içeren teratomlara neden olduğu ortaya konulmuştur (Downing ve Battey 2004). Bunun sonrasında Evans ve Kaufman (1981) ile Martin (1981) blastosist safhasındaki fare embriyolarının iç hücre kitlesi (İHK)'nden pluripotent özellikteki bu EKH'leri elde ettiklerini ve kültürde çoğaltmayı başardıklarını belirtmektedirler. EKH'lerin blastosistler içerisine transferini takiben ilk kimerik canlılar elde edilerek, EKH'lerin yetişkin bir canlının bütün dokularını oluşturabileceği ortaya konulmuştur (Wobus 2001). İnsan blastosistlerinin İHK'nden insan EKH'lerinin elde edilmesi ve kültür ortamında çoğaltılmasının başarılması (Thomson ve ark. 1998), kök hücre teknolojisindeki araştırmaların embriyonik kök hücreler ve erişkin kök hücreler üzerinde yoğunlaşmasına sebep olmuştur.

1. KÖK HÜCRE TİPLERİ VE KAYNAKLARI

Kök hücreler, kendilerini yenileme ve farklı hücre tiplerine farklılaşabilme yeteneğine sahip olan, bu özelliklerini kendilerine özgü olan sinyaller vasıtasıyla gerçekleştiren hücrelerdir. Çoğu doku tipinin oluşumunu sağlayan prekürsör hücreler olan kök hücreler pek çok yetişkin memeli dokusunda tanımlanabilmektedir. Epitel ve kan gibi bazı dokularda normal hücre yaşlanma veya hasardan dolayı kaybolan hücrelerin tekrar yapılmasına katkı sağlamaktadırlar. Bununla birlikte, sınırlı bir hücre rejenerasyona sahip olan beyin ve pankreas gibi diğer yetişkin organlarda da bulunmaktadır (Odorico ve ark. 2001).

Totipotent kök hücreler, vücudun her hücre tipini oluşturabilen, tam olarak fonksiyonel bir organizmanın gelişimini sağlayabilen hücrelerdir (Chapman ve ark. 1999). Ayrıca memelilerde bir totipotent kök hücre, yani fertilize olmuş bir oosit, yaklaşık 200 özelleşmiş somatik hücre tipini içeren kompleks bir organizmayı oluşturabilme yeteneğine sahiptir (Wobus 2001). Pluripotent kök hücreler (blastosist safhasındaki embriyolarda) ise vücudun herhangi bir hücre tipini oluşturabilme potansiyeline sahip olan hücrelerdir (Whittaker 2005).

Bununla birlikte, erişkin organizmada multipotent kök hücre olarak adlandırılan, bazı hücre tiplerine farklılaşma potansiyeline sahip kök hücrelerin de bulunduğu bilinmektedir (Whittaker 2005). Kemik, kas, kıkırdak, yağ ile diğer bağ ve destek dokularını oluşturabilme kapasitesine sahip olan mezenşimal kök hücreler spesifik bir multipotent kök hücre tipidir (Chapman ve ark. 1999).

Unipotent kök hücreler (yetişkin dokularda) ise sadece tek bir hücre tipine farklılaşabilme potansiyeline sahip hücrelerdir (Whittaker 2005).

1. 1. Embriyonik kök hücreler

Blastosist İHK'nden oluşan EKH'ler, in vitro olarak sonsuz şekilde üreme potansiyeline sahip, normal ve dengeli bir karyotipte olan pluripotent hücrelerdir. Bu hücreler in vivo ve in vitro ortamlarda üç germ tabakasından köken alan farklı hücre tiplerine farklılaşabilmektedirler (Shufaro ve Reubinoff 2004).

EKH'ler transgenik hayvanların üretiminde kullanılan başlıca kaynaklardandır (Auerbach ve ark. 1996). Yetişkin dokulardaki kök hücreler tipik olarak sadece sınırlı sayıda hücre tipini şekillendirirken, EKH'ler hemen her hücre tipine farklılaşabilme potansiyeline sahiptirler (Odorico ve ark. 2001).

Manüplasyona uğramamış blastosist safhasındaki embriyoda, İHK'ndeki kök hücreler gastrulasyon sırasında, vakit kaybetmeden üç embriyonik germ tabakasını meydana getirmeye yönelmektedirler (Odorico ve ark. 2001). EKH'ler ve embriyonik germ hücreleri sadece in vivo olarak gelişim göstermeyip, ayrıca in vitro ortamda da endodermal (pankreatik hücreler), ektodermal (deri, nöronlar) ve mezodermal (kan, kalp hücreleri, kıkırdak, endotelial hücreler, düz kas hücreleri) hücre tiplerine farklılaşabilmektedir (Wobus 2001, Koh ve Atala 2004). İHK hücreleri normal embriyonik çevreden uzaklaştırılıp uygun şartlar altında kültüre edildiklerinde sonsuz sayıda çoğalabilen hücrelere dönüşebilmektedir. Kültür içerisinde farklılaşmadan çoğalırken üç embriyonik germ tabakasını şekillendirebilecek farklılaşma potansiyelini de devam ettirmektedir İHK hücreleri, pluripotent fare, primat ve insan EKH'lerinin elde edildiği kaynak hücreler olarak değerlendirilmektedir (Odorico ve ark. 2001).

Fare EKH'ler, antikor/komplement reaksiyonu yardımıyla trofoektoderm lizisini içeren immünocerrahi metoduyla elde edilmektedir (Evans ve Kaufman 1981). İzole edilen İHK hücrelerinin, fare EKH'lerinin farklılaşmasının engellenmesi amacıyla bu hücreler fare embriyonik fibroblast (FEF) besleyici katmanıyla birlikte kültüre edilmektedir. Fare EKH'lerinin elde edilmesi ve kültürü hakkında yapılan çalışmalar sonrasında insan EKH'lerinin temini ve çoğaltılmasında mitozla bölünmeyen FEF'ların besleyici katman olarak kullanıldığı ve ilk kültür medyumun Dulbecco'nun, %20 oranında fetal sıçır serumu (FSS), 1 mM glutamin, 0.1 mM β-merkaptolan ve %1 oranında esansiyel olmayan amino asit ilavesiyle modifiye edilen Eagle medyum olduğu aktarılmaktadır (Moon ve ark. 2006).

Günümüzde immünocerrahi metodu, küçük ve belirsiz İHK hücreleri taşıyan blastosistlerin oluşumuna neden olmakta ve hayvan patojenleriyle kontaminasyon riski taşımaktadır. Bu nedenle parsiyal (Kim ve ark. 2005) ve tüm embriyo kültür metodları geliştirilmiştir (Moon ve ark. 2006). Tüm

embriyo metodu, blastosistin zona pellusidası olmadan, doğrudan besleyici bir katmana ekilmesini ifade eder. Parsiyal embriyo kültürü metodu ise küçük İHK hücrelerine sahip blastosistlerin kültürünü ifade etmektedir (Moon ve ark. 2006).

Kültürden elde edilen EKH'ler, ektodermal hücrelere diferensiyasyon olarak sinir hücrelerine; endodermal hücreler diferensiyasyon olarak pankreatik β hücreleri ve karaciğer epitel hücrelerine; mezodermal hücreler de kemik, kas, kan, kıkırdak hücreleri ile bağ ve destek dokularını oluşturabilmektedirler (Moon ve ark. 2006).

1.2. Yetişkin tip kök hücreler

Geçmişte pek çok dokunun, endojen bir kök hücreye sahip olmamasından dolayı zarar gördüğünde kendini rejenere etme yeteneğinin olmadığı düşünülmekteydi. Yapılan çalışmalarla pek çok yetişkin dokunun da rejeneratif onarım kapasitesine sahip olduğunun ortaya konulmasıyla, yetişkinlerdeki bazı dokuların da (deri, hematopoietik sistem, kemik ve karaciğer) yenilenme ve onarım yeteneklerinin kök veya progenitor hücrelerin varlığına işaret ettiği belirlenmiştir (Vats ve ark. 2005).

Yetişkin tip kök hücreler, dokularda az sayıda bulunan, spesifik bölgelerde lokalize olan, bireyin ömrü boyunca hayati önemde olan doku bütünlüğünün devamlılığını sağlayan hücrelerdir (Schwab ve ark. 2005). Organizmanın o anki yaşı ne olursa olsun dokularında bulunan kök hücreler, yetişkin kök hücreler olarak değerlendirilmektedir (Chapman ve ark. 1999). Multipotent bir kök hücre olan yetişkin kök hücreleri (Whittaker 2005), EKH'ler ve embriyonik germ hücreleriyle karşılaştırıldığında daha düşük pluripotensiyeye sahiptirler (Chapman ve ark. 1999). Bununla birlikte, yetişkin kök hücreler de sahip oldukları asimetrik hücre bölünme potansiyeliyle hemen hemen sınırsız bir şekilde kendilerini yenileme kabiliyetine sahiptirler. Diferensiyasyon durumundaki hücrelerle ortak bazı yüzey işaretlerine sahip olmalarından dolayı tanımlanabiliyorlar. Yetişkin kök hücreleri güçlü olmakla birlikte, klonojenik aktivite gibi fonksiyonel özelliklerine göre tespit edilebilmektedirler (Schwab ve ark. 2005).

Kök hücreler normal şartlar altında birbiri ardı sıra gerçekleşen bölünme ve farklılaşma safhalarından sonra ilgili dokunun hücrelerini oluşturan progenitor hücrelere dönüşürler. Yetişkin kök hücreler retina, akciğer, kalp kası, iskelet, kas, bağırsaklar, böbrek, dalak, kemik iliği, kan ve deri gibi dokuların oluşumuna katkıda bulunabilmektedirler (Grove ve ark. 2004).

Yetişkin kök hücreler üzerindeki en kapsamlı çalışmalar immun sistem ve kan yapımını sağlayan hematopoietik kök hücreler üzerinde gerçekleştirilmiştir (Masson ve ark. 2004). Hematopoietik progenitor hücre kaynağı olarak kemik iliği, periferik kan ve göbek kordonu kanı hayati öneme sahiptir (Cuneo ve ark. 2004). Kemik iliği, hematopoietik kök ve mezenşimal kök

hücrelerine diferensiyasyon olma potansiyeline sahip olan stromal hücrelerin yapımını da üstlenmektedir (Masson ve ark. 2004).

İlk olarak mezenşimal kök hücreler veya kemik iliği stromal hücreleri olarak bilinen fibroblast koloni formları 1974 yılında tanımlanmıştır (Vats ve ark. 2005). Bunu takiben 1999 yılında bu hücreler çoğalma faktörleri kullanılarak in vitro kültürlerde saflaştırılıp üretilerek osteoblast, kondrosit ve adipositler elde edilmiştir (Vats ve ark. 2005). Yapılan çalışmalarda mezenşimal kök hücrelerin kemik, kas ve diğer dokuların onarımı için mutlaka gerekli olduğu tespit edilmiştir (Chapman ve ark. 1999). Kemik iliği kaynaklı kök hücreler iskelet ve kalp kası, karaciğer, deri, bağırsak, akciğer, pankreas, böbrek ve merkezi sinir sistemine ait dokulara diferensiyasyon olabilmektedirler (Grove ve ark. 2004). Bununla birlikte, beyin gibi düşük rejeneratif potansiyele sahip dokularda da nöronal kök hücreler bulunmakta ve aktive olabilmektedirler (Wobus 2001).

Kemik iliğindeki hematopoietik kök hücreler nöronal, myojenik ve hepatik hücre tiplerine diferensiyasyon olabildikleri gibi sinir ve kas kök hücreleri de hematopoietik kök hücrelere dönüşebilmektedir. Dolayısıyla da yetişkin kök hücrelerin yüksek bir plastisiteye sahip oldukları ve gelişim ve diferensiyasyon potansiyellerinin de sınırlı olmadığı ileri sürülmektedir (Wobus 2001).

Olgun hematopoietik progenitor hücrelerin 1974 yılında göbek kordonu kanında bulunduğu ortaya konulmasından sonra yapılan çalışmalarda, bu kanın hematopoietik kök hücre bakımından oldukça zengin olduğu ve kemik iliği ile büyük benzerlik gösterdiği bildirilmiştir (Mayani ve Lansdorp 1998).

Yetişkin kök hücreler yüksek farklılaşma potansiyeline sahip olmakla birlikte embriyonik ve fetal kök hücrelerininkine kadar yüksek çoğalma potansiyeline sahip değildirler. Üstelik çevresel faktörlere bağlı olarak oluşan DNA anomalileri ve genetik defektlere sahip olduklarından transplantasyon için uygun olmayabilmektedirler (Wobus 2001).

Embriyonik ve yetişkin kök hücreler dışında fetal dokulardan da kök hücreler elde edilebilmektedir (Lisker 2003). Mezenşimal kök hücreler fetal kan hücrelerinden elde edilmektedir. Bu hücreler, kültürde 20-40 pasaj sonunda kemik, kıkırdak, oligodentositler ve hematopoietik hücrelere farklılaşabilmektedirler. Bununla birlikte bu hücreler sadece gebeliğin ilk üç aylık periyodunda bulunmalarının yanı sıra fetal karaciğer epitel hücreleriyle ve kemik iliğindeki hematopoietik popülasyonlara da benzerlik göstermektedirler (Vats ve ark. 2005).

2. KLONLAMA

Klon ifadesi ilk olarak 1903 yılında Webber tarafından, tek bir atadan eşeysiz olarak üreyen organizmaların oluşturduğu kolonileri tanımlamak için kullanılmıştır. Klonlama bugünkü anlamıyla DNA

parçalarının, genlerin ve hücrelerin ya da orijinalinin aynı bireylerin üretimi olarak tanımlanabilmektedir (Lisker 2003).

Yetişkin bir omurgalıda doğal klonlama, sınırlı bir biçimde identikal ikizlerin formasyonu ile meydana gelmektedir. Yumurta sperm tarafından döllenmesiyle oluşan bir zigottan sağlanan embriyolar genetik olarak identiklidir (Rossant 1997).

2.1. Embriyonik hücre klonlaması

Hayvan klonlamaya ilgili büyük girişimler, yeni bir ekonomik eğilim dalgasının tarımla ilgili bilim dallarına yönelik araştırmaları maddi olarak desteklemeye başladığı 1980'li yıllara kadar ortaya çıkmamıştır (Bowring 2004).

Memelilerdeki ilk başarılı nükleus transferi, donör olarak embriyonik hücreleri kullanan Illmensee ve Hoppe (1981) tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu araştırmacılar erken embriyo hücre çekirdeklerinin enükle edilmiş zigotlara (1-hücreli embriyolar) transplantasyonu ile üç fare elde etmişlerdir. Willadsen (1986) ise alıcı (resipient) zigot yerine oositleri kullanarak olgun 8 blastomerli bir embriyodan alınan bir hücre nükleusu ile çok önemli bir buluş olan, ilk klonlanmış memeliyi, bir koyunu ürettiğini bildirmektedir. Birçok embriyologdan farklı olarak Willadsen farklılaşmanın ileri aşamasındaki hücrelerden klonlar üretmiştir (Bowring 2004). Willadsen'in çalışmaları önderliğinde, aynı prensibi kullanılmasıyla sığır ve domuz gibi diğer evcil türlerde de embriyonik hücre klonlamasından olan yavruların doğumu gerçekleştirilmiştir (Vajta ve Gjerris 2006).

2.2. Somatik hücre nükleer transferi (SHNT)

Yapılan pek çok çalışmada, donör nükleuslar için kaynak olarak embriyonik hücreler kullanılmıştır (Vajta ve Gjerris 2006). Bu yöntemle yapılan deneyler, erken dönemdeki embriyonik hücrelerin tamamen bir hayvanı şekillendirecek bütün potansiyele sahip olduğunun, yani totipotent olduğunu ispatlanması açısından bilimsel olarak oldukça önemlidir. Gelişim aşamaları ilerledikçe, hücreler özel hücre tiplerine farklılaşmaları yanında, tersine bir değişimle kısa bir süre içinde gelişiminin başladığı noktaya geri de dönebilmektedir. İlk kez amfibianlarda gerçekleştirilen nükleer transfer deneyleri sonucunda farklılaşma aşamasındaki olayların bir şekilde geri döndürülmesi halinde, farklılaşmanın ileri aşamasındaki yetişkin hücrelerden bile yeni canlıların üretilmesinin mümkün olduğu ortaya konmuştur (Rossant 1997).

Briggs ve King (1952), kurbağa yumurta nükleuslarının çıkartılması (enüklasyon) ve takiben farklı bir kurbağa blastomerinden alınan nükleusun, enükle edilen yumurtaya enjeksiyonuyla (nükleer transplantasyon) genetik olarak çekirdeği nakledilen kurbağa ile aynı özellikte kopya kurbağa yavruları üretmişlerdir. Daha sonra Gurdon (1962) ve Gurdon

ve ark. (1975) intestinal epitel hücresi ve keratinize deri epitel hücresi nükleuslarını da kurbağa klonlamada kullanmışlardır. Ayrıca buna benzer şekilde başka çalışmaların da gerçekleştirildiği belirtilmektedir (Rossant 1997).

Fötal deri hücrelerinden 1995 yılında bir koyunun klonlanması ve iki kuzunun doğumunu (Campbell ve ark. 1996), 1996 yılında ergin dişi bir koyunun meme bezi epitel hücresinden klonlanan Dolly isimli kuzunun doğumu takip etmiştir (Wilmut ve ark. 1997). Dolly'nin, ergin meme bezi epitel hücresi nükleusları ve enükle edilmiş oositler arasındaki 247 başarılı füzyonun 29'unun (%12) blastosist safhasına kadar geliştirilmesi ve transfer edilen 29 blastosistin 1'inin gelişimine devam etmesiyle dünyaya geldiği belirtilmektedir (Wilmut ve ark. 1997).

2.3. Klonlamanın verimliliği

Klonlamanın verimlilik hedefi sağlıklı, fertil yavrular elde edilebilmesi olduğu için sağlıklı yavruların üretim oranının temel alınması gerekmektedir. Taşıyıcı annelere transfer edilen blastosistlerden gelişen orta dönemdeki fütüslerin oranına göre ya da nükleus transferi yapılan oositlerin tamamından gelişen canlı yavruların oranına göre hesaplama yapılmakta ve ilk yöntemle yapılan hesaplamada daha yüksek bir oran elde edilmektedir. Bununla birlikte yapılan çalışmalarda nükleus transferinde kullanılan oositlerin sayıları bildirilmediği için bu yöntemle başarı oranının kesin olarak hesaplanması mümkün olmamaktadır. Klonlamadaki gerçek başarı oranı, nükleus transferi için manüple edilen oositlerin tamamından gelişen canlı yavruların sayısı dikkate alındığında oldukça düşüktür (Yanagimachi 2002).

3. KÖK HÜCRE TEDAVİSİ VE TERAPÖTİK KLONLAMA

Kök hücrelerin kendilerini yenileme potansiyeli ve farklı hücre tiplerine değişebilmesi (Odorico ve ark. 2001), farklı kök hücre kaynaklarından elde edilebilen bu hücrelerin tedavide kullanılabileceğini düşündürmüştür.

EKH'ler, diğer kaynaklardan elde edilen kök hücrelerle karşılaştırıldığında farklı hücre tiplerine diferensiyasyon yeteneklerinin daha güçlü olması nedeniyle, tedavisi zor olan pek çok hastalıkta kullanılabilecek hücre kaynaklarıdır. Bununla birlikte immünolojik ret olayı, EKH'lerle yapılan hücre tedavisi uygulanmasında da temel problemlerden biridir (Moon ve ark. 2006).

Dejeneratif hastalıklar ve yaralanmaların tedavisinde kök hücre tedavisinin muhtemel rolü hakkında yoğun tartışmalar yapılmaktadır (Whittaker 2005). Bununla birlikte, sınırlı sayıda hücre tiplerinin disfonksiyonu ve/veya yıkımına sebep olan, pankreatik adacık hücrelerinin tahrip olduğu diabetes mellitus ve beyin özel bir bölgesindeki dopaminerjik nöronların yıkımına sebep olan Parkinson hastalığı gibi hastalıklar EKH nakli ile

tedavi edilebilmektedir. Ayrıca hayvan modellerinde yapılan çalışmalar, pluripotent veya fötal kök hücrelerin transplantasyonu ile diyabet, Parkinson hastalığı, travmatik medulla spinalis hasarı, Pürkinje hücre dejenerasyonu, karaciğer ve kalp yetmezliği, kas distrofisi ve osteogenesis imperfekta gibi çeşitli kronik hastalıkların başarılı bir şekilde tedavi edilebildiğini ortaya koymuştur (Odorico ve ark. 2001).

EKH'lerden üretilen kardiomyosit ve hepatositler toksikoloji açısından da ideal hücre popülasyonlarını sağlayabilmektedir. Bu hücreler kullanılarak hayvan modellerinin kullanıldığı tekniklerle tespit edilemeyen ilaçların toksisitesi de belirlenebilmektedir (Keller 2005).

Kemik iliğinden sağlanan progenitorler nekroz sonucu hasar gören kalp kasına göç ederek kalp fonksiyonlarını geliştirebilmektedir (Vats ve ark. 2005). Hematopoietik ve mezenşimal kök hücreler gibi kemik iliğinde bulunan somatik kök hücreler lösemi tedavisi ile iskelet rejenerasyon tedavilerinde klinik kullanım alanı bulmaktadır (Wobus 2001).

Göbek kordonu kanı kök hücreleri de farklı malign kan hastalıklarında alternatif bir tedavi seçeneği olup, en iyi sonuçlar akut lösemi, kemik iliği hipoplazisi, hemoglobinopatiler ve bazı immün yetersizliklerde elde edilmektedir (Cuneo ve ark. 2004).

İnsan EKH'lerinin elde edilmesi için insan embriyolarının parçalanması gerektiğinden Koh ve Atala (2004) EKH'ler üzerinde yapılan çalışmaların etik ve politik problemlere yol açabileceğine dikkat çekmişlerdir. Terapötik klonlama ise EKH üretiminde etik ve politik tartışmaları ortadan kaldıran alternatif bir yol olarak kabul edilmektedir.

Dolly'de kullanılan metot (terapötik klonlama) uygulanarak önce hastanın somatik hücrelerinin enüklasyon uygulanan insan yumurta hücreleriyle füzyona uğratılması, takiben kültüre edilmesiyle blastula aşamasına kadar gelişen embriyolardan alınacak olan EKH'lerin spesifik prekürsör hücrelere ve somatik hücrelere diferensiyasyon oldukları gösterilmiştir. Bu yolla elde edilen hücreler, hastanın kendi genetik yapısına sahip olduğundan (mitokondriyal DNA hariç), immünolojik uyumsuzluk sorunu ortaya çıkmamaktadır (Wobus 2001).

Hwang ve ark. (2004), terapötik klonlama olarak adlandırılan somatik hücre nükleus transferi (SHNT) metodunu EKH'ler elde etmek amacıyla uygulamışlardır. Araştırmacılar 16 gönüllüden 242 oosit toplamış ve bu oositlerden metafaz II aşamasına ulaşan 176 oositi SHNT için değerlendirmişlerdir. Donörlerin kendi kumulus-oosit komplekslerinden izole ettikleri kumulus hücrelerini yine donörlerin kendi enüklasyon uygulanan oositleri ile füzyona tabi tutmuşlardır. Sığır SHNT yöntemindeki gibi füzyon ve aktivasyon arasında genetik saatin geriye programlanması için 2 saatlik bir süre beklemişlerdir. Bununla birlikte, spermin yapacağı aktivasyon etkisini çeşitli kimyasal, fiziksel ve mekanik ajanlarla sağlayarak normal karyotipe sahip ve somatik nükleer donör hücrelerle genetik olarak identikal

SHNT-insan embriyonik kök hücrelerini elde etmişlerdir.

SONUÇ

İstenilen özellikte, genetik olarak identikal bireylerin üretilmesine izin veren klonlama teknolojisi ile pek çok hastalığın tedavisinde bir çözüm olarak değerlendirilen kök hücre teknolojisinin insan ve hayvan sağlığı açısından günümüzün popüler araştırma konuları arasında olduğu gayet açıktır.

Kök hücre ile ilgili yapılan çalışmalarda, bu hücrelerin farklılaşma özelliklerinin kontrol edilmesi, in vitro kültür işlemlerinde uygun ortamın sağlanması, elde edilen kök hücrelerin transplantasyonda kullanımı ve en önemlisi transplante edilen hücrelerin alıcı tarafından immün reaksiyonlar sonucu reddedilmesindeki mekanizmaların tam anlamıyla ortaya konulması gerekmektedir. İşte bu noktada, klonlama teknolojisi yardımıyla genetik olarak identikal, aynı karyotipte ve sonuçta alıcı tarafından immünolojik reaksiyonlarla reddedilmeyen kök hücrelerin üretilmesi ve kullanılması araştırmalara yeni bir boyut kazandırmıştır.

Bütün bu ilerlemelere rağmen daha sağlıklı ve kaliteli bir yaşam için bu iki teknoloji üzerinde bilim adamlarının daha fazla yoğunlaşmasının gerektiği görülmektedir.

KAYNAKLAR

- Auerbach R, Huang H. and Lu L (1996) Hematopoietic stem cells in the Mouse embryonic yolk sac. *Stem Cells*; 14: 269–280.
- Bowring F (2004) Therapeutic and reproductive cloning: a critique. *Soc Sci Med*; 58: 401–409.
- Briggs R. and King TJ (1952) Transplantation of living nuclei from blastula cells into enucleated frogs' eggs. *Proc Nat Acad Sci USA* 38, 455–463.
- Campbell KHS, McWhir JM, Ritchie WA. and Wilmut I (1996) Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. *Nature*; 380: 64–66.
- Chapman R, Frankel MS, Garfinkel MS (1999) Stem cell research and applications: Monitoring the frontiers of biomedical research. *Am Assoc Adv Sci Inst Civil Soc*; 34: 405–416
- Cuneo S, Rangel R, Ruvalcaba L, Chanona J, Batiza V, Bermudez A, Gallardo E, Muniz M (2004) Stem cells from umbilical cord blood as a source for future genetic and therapeutic uses in patients from IVF donation programs. *International Congress Series*; 1271: 167–170.
- Downing GJ. and Battey J (2004) Technical assessment of the first 20 years of research using Mouse embryonic stem cell lines. *Stem Cells*; 22: 1168–1180.
- Evans MJ. and Kaufman MH (1981) Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature*; 292: 154–156.

- Friedrich TD, Regenass U, Stevens LC (1983) Mouse genital ridges in organ culture: the effects of temperature on maturation and experimental induction of teratocarcinogenesis. *Differentiation*; 24: 60-64.
- Grove JE, Bruscia E. and Krause DS (2004) Plasticity of bone marrow-derived stem cells. *Stem Cell*; 22: 487-500.
- Gurdon JB (1962). The developmental capacity of nuclei taken from intestinal epithelium cells of feeding tadpoles. *J Embryol Exp Morphol*; 10: 622-640.
- Gurdon, JB, Laskey, RA. and Reeves OR (1975). The developmental capacity of nuclei transplanted from keratinized skin cells of adult frogs. *J Embryol Exp Morphol*; 34: 93-112.
- Hwang WS, Ryu YJ, Park JH, Park ES, Lee EG, Koo JM, Jeon HY, Lee BC, Kang SK, Kim SJ, Ahn C, Hwang JH, Park KY, Cibelli JB. and Moon SY (2004) Evidence of a pluripotent human embryonic stem cell line derived from a cloned blastocyst. *Science*; 303: 1669-1674.
- Illmensee K. and Hoppe PC (1981) Nuclear transplantation in mus musculus: Developmental potential of nuclei from preimplantation embryos. *Cell*; 23: 9-18.
- Keller G (2005) Embryonic stem cell differentiation: Emergence of a new area in biology and medicine. *Gen Dev*; 19: 1129-1155.
- Kim HS, Oh SK, Park YB, Ahn HJ, Sung KC, Kang MJ, Lee LA, Suh CS, Kim SH, Kim DW. and Moon SY (2005) Methods for derivation of human embryonic stem cells. *Stem Cells*; 23: 1228-1233.
- Koh CJ. and Atala A (2004) Therapeutic cloning applications for organ transplantation. *Trans Immunol*; 12: 193-201.
- Lisker R (2003) Ethical and Legal Issues in Therapeutic Cloning and the Study of Stem Cells. *Arch Med Res*; 34: 607-611.
- Martin GR (1981) Isolation of a pluripotent cell line from early Mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA*; 78: 7634-7638.
- Masson S, Harrison DJ, Plevris JN. and Newsome PN (2004) Potential of hematopoietic stem cell therapy in hepatology: A critical review. *Stem Cell*; 22: 897-907.
- Mayani H. and Lansdorp PM (1998) Biology of human umbilical cord blood-derived hematopoietic stem/progenitor cells. *Stem Cell*; 16: 153-165.
- Moon SY, Park YB, Kim DS, Oh SK. and Kim DW (2006) Generation, culture, and differentiation of human embryonic stem cells for therapeutic applications. *Mol Ther*; 13: 5-14.
- Odorico JS, Kaufman DS. and Thomson JA (2001) Multilineage differentiation from human embryonic stem cell lines. *Stem Cells*; 19: 193-204.
- Rossant J (1997) The science of animal cloning In: National Bioethics Advisory Commission (NBAC). *Cloning Human Beings. Volume II: Commission Papers*, Rockville, MD: National Bioethics Advisory Commission (NBAC): B1-B21.
- Schwab KE, Chan RWS. and Gargett CE (2005) Putative stem cell activity of human endometrial epithelial and stromal cells during the menstrual cycle. *Fertil Steril*; 84: 1124-1130.
- Shufaro Y. and Reubinoff BE (2004) Therapeutic applications of embryonic stem cells. *Best Pract Res Clin Obs Gyn*; 18: 909-927.
- Thomson JA, Itskovitz-Eldor Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS. and Jones JM (1998) Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*; 282: 1145-1147.
- Trounson AO, Gardner DK, Baker G, Barnes FL, Bongso A, Bourne H, Calderon I, Cohen J. and Dawson K (2000) *Handbook of in vitro fertilization*. Boca Raton, New York, Washington DC, CRC Press.
- Vajta G. and Gjerris M (2006) Science and technology of farm animal cloning: State of the art. *Anim Reprod Sci*; 92: 211-230.
- Vats A, Bielby RC, Tolley NS, Nerem R. and Polak JM (2005) Stem cells. *Lancet*; 366: 592-602.
- Whittaker PA (2005) Therapeutic cloning: The ethical limits. *Toxic Appl Pharmacol* 270, 689-691.
- Willadsen SM (1986) Nuclear transplantation in sheep embryos. *Nature*; 320: 63-65.
- Wilmut, I., Schnieke, AE., McWhir, J., Kind, AJ. and Campbell, K.H.S. (1997). Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature*; 385: 810-813.
- Wobus AM (2001) Potential of embryonic stem cells. *Mol Aspec Med*; 22: 149-164.
- Yanagimachi R (2002) Cloning: experience from the mouse and other animals. *Mol Cell Endocrinol*; 187: 241-248.

YAYIN KURALLARI

1. Hayvancılık Araştırma Dergisi, Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nün yayın organı olup; 6 ayda bir olmak üzere, yılda iki sayı olarak yayınlanır.
2. Dergide, Hayvancılık ve buna yakın alanlara ait araştırma makaleleri, kısa bildirimler, klinik gözlemler, derleme makaleler ve editöre mektup şeklinde hazırlanmış ve daha önce hiçbir dergide yayımlanmamış (kongre tebliğleri hariç) yazılar yayınlanır.
3. Derginin uluslar arası alanda ilgi çekebilmesi ve yabancı okuyucular tarafından da anlaşılabilmesi amacıyla yabancı dilde hazırlanan makalelere yayında öncelik tanınır.
4. Türkçe olarak yayına hazırlanan makalelerde materyal ve metod ile bulguları da açıklar nitelikte yabancı dilde özet yazılmış olmalıdır.
5. Yayına kabul edilen yazılar için basım öncesi metin uzunluğu ve yazının türü dikkate alınarak yazarlardan basım ücreti talep edilir. Talep edilen ücret ve ödeme şekline ait detaylar yazarlara bildirilir.
6. Dergi yayın kurulu, makale üzerinde, gerekli gördüğü kısaltma ve düzeltmeleri yapabilir, varsa önerilerini yazılı ve sözlü olarak yazar(lar)a iletir. Yazıların, bilimsel yönden incelenmesi için Yayın Danışmanlarına başvurulur.
7. Makalenin bilimsel yönden değerlendirilmesi için en az bir yayın danışmanının görüşüne başvurulur. Yayın danışmanlarının önerileri doğrultusunda yeniden düzenlenmek için geri gönderilen makaleler öneriler doğrultusunda düzenlemeler yapıldıktan sonra 10 gün içerisinde yayın kuruluna iade edilir.
8. Yayınlanan yazılardan doğan her türlü sorumluluk yazar(lar)a aittir.
9. Yazarlar tarafından dergiye sunulan yazıların "araştırma makalesi", "kısa bildiri", "klinik gözlem", "derleme makale" veya "editöre mektup" olduğu, yurt içi veya dışında herhangi bir dergide yayınlanmadığı veya yayına sunulmadığı ayrı bir yazı ile belirtilmeli ve yazının en alt bölümünde tüm yazarların isim ve imzaları bulunmalıdır.
10. Yabancı dilde (İngilizce) ya da Türkçe olarak hazırlanacak tüm metinler kolay okunabilir bir karakterde, çift satır aralıklı (herhangi bir sıkıştırma yapılmaksızın) ve sayfa kenarında yeterli boşluk kalacak şekilde A4 formunda hazırlanmalıdır. Metinler tablo, resim, çizim, şema, grafik ve kaynaklar dahil olmak üzere toplam 15 sayfadan fazla olmamalı, sayfalar numaralandırılmalıdır. Yayın başvuruları hayarsderg@gmail.com adresine yapılmalıdır.
11. Konu ile ilgili siyah- beyaz fotoğraflar (fazla sayıda fotoğraf varsa plate halinde bir arada toplanmalıdır), grafik, tablo ve çizimler baskı ile çoğaltılabilecek nitelik ve kalitede hazırlanmış olmalı ve Türkçe açıklamalara ek olarak yabancı dilde de açıklanmalıdır.
12. **Araştırma makalelerinin** bölümleri aşağıda belirtilen sıraya uygun olarak hazırlanmalıdır. **Başlık:** makalenin içeriğini tam olarak yansıtmalıdır. Başlık için gerekli açıklamalar (maddi yönden destekleyen kurum, araştırmanın doktora tezinden özetlendiği vs.) özel işaretlerle başlıkta belirtilmeli ve bu işaretler için açıklamalar birinci sayfanın altında dipnot olarak belirtilmelidir. Yazarların tam adları başlıktan sonra çalışma adresleri ise birinci sayfanın altında yazılmalıdır. **Özet:** çalışmanın özünü yansıtmalı, gerek Türkçe ve gerekse yabancı dildeki makaleler için 200 kelimeyi aşmamalıdır. Özeti altına beşten fazla olmamak kaydıyla anahtar kelimeler eklenmelidir. **Yabancı dildeki özeti** (summary) başına eserin başlığı aynı dille konulmalıdır. **Giriş:** araştırma konusu ile ilgili bilgiler mümkün olduğunca kısa ve özlü yazılmalı, konu dışı gereksiz bilgiler verilmemelidir. Giriş bölümünün araştırmanın tümünün sayfa sayısının %15'ini aşmamasına özen gösterilmelidir. Bu bölümün son paragrafında ise araştırmanın amacı açık olarak belirtilmelidir. **Materyal ve metod:** kullanılan materyal ve metodlar (kullanılan istatistik yöntemler de dahil olmak üzere) yeterince detaylı olarak tarif edilmeli ancak iyi bilinen ve sık kullanılan metodlar için kapsamlı açıklamalara gidilmeden atıfta bulunulmalıdır. **Bulgular:** elde edilen veriler mümkün olduğunca tablo ve şekillerle, (grafik, fotoğraf vb.) birlikte özlü olarak verilmelidir. **Tartışma ve sonuç:** bölümünde araştırma bulguları mevcut kaynaklarla tartışılarak değerlendirilir ve yorumlanır. Sonuçta açık ve kısa cümlelerle, çalışmadan elde edilen sonucun ekonomi, bilim ve pratiğe katkıları ve bu konuda çalışacak

- diğer araştırmacılara neler tavsiye edileceği açıklanır. Bu bölümün makalenin toplam sayfa sayısının %30'unu aşmamasına özen gösterilmelidir. **Kaynaklar:** Kaynaklar metin içerisinde yazar soyadı ve yayınlandığı yıl ile belirtilir (Aksoy 1993). İki yazar var ise (Aksoy ve Semacan 1994), yazarlar ikiden fazla ise (Aksoy ve ark. 1997), kaynaklar birden fazla ise tarih sırasına göre (Aksoy 1989, Semacan 1991, Alaçam ve ark. 1997) belirtilir. Cümle başında ise sadece tarihler parantez içine alınır. Örneğin; Alaçam (1994), Aksoy ve ark. (1989) gibi. Aynı yazarın birden fazla yayını bulunuyor ise (Aksoy 1984,1990, 1994a,1994b) olarak belirtilir. Kaynakların sıralanması birinci yazarın soyadına göre alfabetik olarak yapılır. Aynı isimli yazar veya araştırmacının birden fazla makalesi kullanılmış ise sıralamada tarihler dikkate alınır. Aynı tarihli olanlarda ise tek isimli olanlara öncelik tanınır. Aynı isim ve tarihli makalenin bulunması halinde ise parantez içinde tarihin yanına harf (a, b gibi) konulur ve metin içinde atıfta bulunulduğunda da bu harfler belirtilir.
- Yararlanılan kaynağa göre literatürlerin yazılma biçimleri aşağıda gösterilmiştir. Yararlanılan kaynak;
- Periyodik ise:** Foxcroft GR, Hunter MG (1994) Basic physiology of follicular maturation in the pig. J Reprod Fertili; 211(3): 353-359.
- Yararlanılan dergilerin isimlerinin kısaltılmaları Index Medicus'a göre yapılmalıdır.
- Kitap ise:** Lewitt J (1985) Responses of Plants to Environmental Stresses. Academic Press. Orlando.
- Bölümleri farklı yazarlar tarafından yazılmış bir kitap ise:** Ralph JH (1986) Genital diseases. In "Veterinary Medicine". Ed. SJ Ettinger. WB Saunders Company, Philadelphia.
- Tebliğ veya rapor ise:** Taylor WD (1972) Bovine herpes mammillitis-like disease diagnosed in the United States. Proceeding of 74 th Annual meeting of U.S. Animal Health Association, New York.
13. **Kısa bildirimler;** Kısmen tamamlanmış ve yorumlanacak sonuçlara ulaşılmış, orijinal bir araştırmanın takdimidir. Daha önce "araştırma makaleleri" bölümünde belirtilen diğer kurallara uyularak ve aynı bölümleri içerecek biçimde yazılmalıdır. Özet, 100 kelimeyi aşmamalı (Türkçe yazılan kısa bildirimlerde "Summary" 150 kelimeye kadar uzatılabilir) ve yazı toplam 6 sayfadan uzun olmamalıdır.
 14. **Gözlemler;** Uygulama, klinik ve laboratuvar ile ilgili alanlarda karşılaşılan, ender olarak görülen ve daha önce başka bir dergide yayınlanmamış olgulardır. Araştırma makaleleri düzeninde yazılmalı ancak "materyal ve metod" yerine olgunun tanımı yapılmalıdır. Özet, 100 kelimeyi aşmamalı (Türkçe yazılan gözlemlerde "Summary" 150 kelimeye kadar uzatılabilir) ve yazı toplam 6 sayfadan uzun olmamalıdır.
 15. **Derleme makaleler;** Önemli bir konuyu literatüre dayalı olarak inceleyen, sentezleyen ve bir sonuca varan bilimsel yayınlardır. Araştırma makaleleri düzeninde yazılmalı, özet Türkçe ve yabancı dilde yazılan derlemelerde 200 kelimeyi aşmamalı (Türkçe yazılan derlemelerde "Summary" 250 kelimeye kadar uzatılabilir) ve yazı toplam 15 sayfadan uzun olmamalıdır.
 16. **Editöre Mektup;** Bilimsel veya pratik bir olgu ya da konunun kısa takdimidir. Çift aralıklı olarak yazılmış 2 sayfadan uzun olmamalıdır.

Yayın başvuruları; e-mail yoluyla hayarsderg@gmail.com adresine yapılmalıdır.

Adres:

Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü
"Hayvancılık Araştırma Dergisi Editörlüğü"
P.K. 125 42020- Konya / TÜRKİYE

Tel. +90.332.355 1290-91-92 / 116

Fax. +90.332.355 12 88

Web : <http://www.bahridagdas.gov.tr>

INSTRUCTIONS to AUTHORS

1. Journal of Animal Research is the official journal of the Bahri Dağdaş International Agricultural Research Institute and published six monthly, two issues per year.
2. Original papers, short communications, review articles, clinical observations and the notes designed as letter to editor on all aspects of veterinary medicine, animal science and related topics are published. Papers are accepted for publication on the understanding that they have not been published (except the proceeding of congress) and are not being considered for publication elsewhere.
3. In the addition to the Turkish, the contributions written particularly in English are also welcome.
4. Original papers written in Turkish should also contain a summary, not exceeding 250 words, written in English.
5. After acceptance of the papers, author(s) will be charged based on the total number of pages of the article. There on, the authors will be informed about the details of payment.
6. Editorial committee reserves the privilege of returning to the author(s) for revision accepted manuscripts and illustrations which are not in the proper form for publication.
7. All manuscripts submitted for publications are refereed and the papers that returned to author for revision after initial consideration by referees should be resubmitted to editorial board during 10 days.
8. The author(s) bear full responsibility for the contents of their contribution. Manuscript accepted or rejected is not returned back to author(s).
9. The journal requires a statement signed by all author(s) acknowledging that they are aware of the manuscript submission and agreeing to be listed as co- author(s) and that manuscript has never been published or submitted for publication elsewhere.
10. Manuscripts, up to 15 printed pages, should be typed double-spaced A4 form. Manuscripts should be submitted to hayarsderg@gmail.com
11. Black and white photos, figures, tables and drawings must be in high quality.
12. Manuscripts in general should be organized in the following order:

Title: Should be clear and descriptive

Name(s) of author(s)

Complete postal address of author(s)

Summary: Should not exceed 200 words, it should contain a very brief account of the materials and methods, results and conclusions, so that the reader need to refer to the article except for details.

Key words: Maximally five key words should be listed.

Introduction: Should be brief and limited to the statement of the problem or the aim of the experiment. The review of literature should be pertinent to problem.

Materials and methods: Including experimental design and the techniques employed. Where the methods are well known, the citation of a standard work is sufficient. The statistical methods used should be clearly stated.

Results: The results should be supported by brief but adequate tables, or graphic or pictorial material, wherever necessary.

Discussion: Should interpret results with minimal recapitulation of findings.

References: In the text all references should be indicated by name and date, e.g. Aksoy (1992). If a citation has more than two authors, the first author should be given followed by "et al". Where lists of references are cited in the text they should be placed in chronological order, e.g. (Tekeli 1992, Aksoy 1997). If more than one reference by the same author(s) published in the same year are cited, they should be distinguished from each other by placing a, b, etc. After the year i.e. (Aksoy 1994 a, 1994b). List of references should be arranged in alphabetical sequence and numbered in that order according to the following examples:

Foxcroft GR, Hunter MG (1994) Basic physiology of follicular maturation in the pig. *J Reprod Fertil*; 211 (3) :353-359.

Abbreviations of journal names should conform to the style of the Index Medicus.

Lewitt J (1985) Responses of Plants to Environmental Stresses. Academic Press. Orlando.

Ralph JH (1986) Genital diseases. In "Veterinary Medicine". Ed. SJ Ettinger. WB Saunders Company, Philadelphia.

Taylor WD (1972) Bovine herpes mammillitis-like disease diagnosed in the United States. Proceeding of 74th Annual Meeting of U.S. Animal Health Association, New York.

13. **Short communications and case reports:** Should not exceed six printed pages containing a summary consisting of up to 100 words and should be organized according to the order described previously for original articles.
14. **Review articles:** Should not exceed occupy more than 15 printed pages containing a summary consisting of up to 200 words. Reviews may be submitted or invited.
15. **Letter to editor:** Paper designed as letter to editor should not exceed two printed papers typed double-spaced.

Manuscript should be sent by e-mail;

E-mail: hayarsderg@gmail.com

Address:

Bahri Dağdaş International Agricultural Research Institute

Editorship of Journal of Animal Research

P.O. Box: 125

42020 KONYA TURKEY

Office phone: + 90.332.355 12 90-91-92 / 116

Office fax: + 90.332.355 12 88

Web : <http://www.bahridagdas.gov.tr>

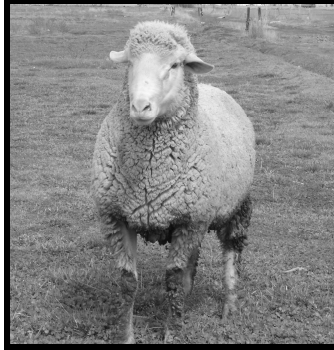
KONYA MERİ NOSU

KONYA MERİ NOSU' NUN ÖZELLİKLERİ

- Vücut beyaz renkli yapağı ile örtülüdür.
- Yapağısı bir örnek ve ince olup, tekstil sanayisinde kullanılmaktadır.
- Başın yüz kısmı ile bacakları yapağı ile örtülü değildir.
- Baş uzunluğu ve genişliği orta, dudaklar kalın, kulaklar yatay ve geniş, boyun kısa ve kalın, vücut geniş, derin ve uzun, butlar dolgun ve etli, bacaklar uzun ve kuvvetlidir.
- Kuyruk yağsız, ince uzundur.
- Erkek ve dişiler genelde boynuzsuzdur.
- Yürüyüş ve meradan faydalanma kabiliyeti yerli ırklardan sonra en iyi olan koyundur.
- Akkaramana göre iri, derin ve geniş yapılı bir vücuda sahiptirler.

KONYA MERİ NOSU' NUN ÖNEMLİ VERİM ÖZELLİKLERİ

Çeşitli verim özellikleri	Ortalama Değerleri
Koyunların canlı ağırlığı (kg)	50-55
Koçların canlı ağırlığı (kg)	65-75
Laktasyon süresi (gün)	140-150
İkizlik oranı (%)	35-40
Kuzuların doğum ağırlığı (kg)	4,1-4,5
Sütten kesim ağırlığı (kg) (75. gün)	22-26
Kirli yapağı verimi (kg)	3,3-3,9



Konya Merinosu Koç



Konya Merinosu Koyunlar

HASAK

Hasak tipi Alman Siyah Baş ve Hampshire Down etçi koçlarından iyi but yapısı, derin ve geniş göğüs, sağlam ve iri vücut yapısı, Akkaramanlardan ise çevre koşullarına iyi adaptasyonu almıştır.

HASAK'IN ÖZELLİKLERİ

- Yerden yüksek olup güçlü, iyi gelişmiş, ağır olup, uzun mesafelere yürüyüş kabiliyeti iyi olması nedeniyle hem mera ve hem de besi hayvancılığına uygundur.
- Erken gelişmesi, besi performansının yüksek olması nedeniyle özellikle etçi bir tip özelliğine sahiptir.
- İlk defa damızlıkta kullanma yaşı 16–18 aydır.
- Orta büyüklük ve orta uzunlukta bir vücut yapısına sahiptir.
- Derin, geniş bir gövde, geniş ve gergin bir bele sahiptir.
- Yapağı rengi homojen değildir. Vücut rengi genelde alacalı renkte olup, alaca renk siyahtan açık kahve renge kadar değişebilmektedir. Kimi zaman da tümüyle siyah renk koyunlarda hakim olarak görülebilmektedir.
- Kuvvetli ve düzgün duruşlu bacaklarda yapağı el bileğine kadar uzanmaktadır.
- Koç ve koyunlar genel olarak boynuzsuzdur.
- Kuyruk yapısı ince uzun olmakla beraber, uyluk kısmına doğru biraz kalın yağlıdır.

HASAK GENOTİPİ'NİN ÖNEMLİ VERİM ÖZELLİKLERİ

Çeşitli verim özellikleri	Ortalama Değerleri
Koyunların canlı ağırlığı (kg)	60–65
Koçların canlı ağırlığı (kg)	75–90
Kuzuların yaşama gücü (%)	90–95
İkizlik oranı (%)	18–25
Kuzuların doğum ağırlığı (kg)	4.17
Sütten kesim ağırlığı (kg) (75. gün)	22.6
Kirli yapağı verimi (kg)	3.1



Hasak Koç



Hasak Koyun

HASMER

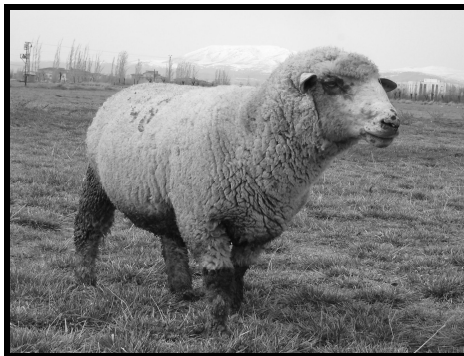
HASMER tipi Alman Siyah Baş ve Hampshire Down etçi koçlarından iyi but yapısı, derin ve geniş göğüs, sağlam ve iri vücut yapısı, Merinoslardan ise yapağı kalitesi ve bir örnekliliği, çevre koşullarına iyi adaptasyonu almıştır.

HASMER'İN ÖZELLİKLERİ

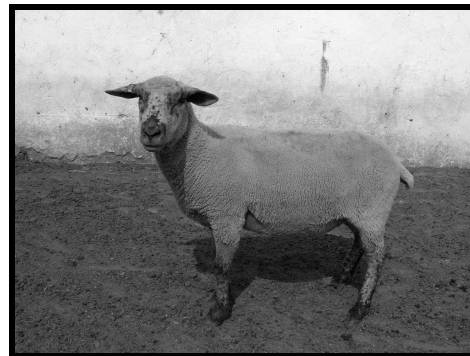
- Yerden yapılı, güçlü, iyi gelişmiş, ağır olup, mera ve besi hayvancılığına uygundur.
- Yapağısı homojen olup, yerli ırklardan daha kalitelidir.
- Erken gelişmesi, besi performansının yüksek olması nedeniyle özellikle etçi bir tip özelliğine sahiptir.
- Derin, geniş bir gövde, geniş ve gergin bir bele sahiptir.
- Vücut rengi genel olarak beyazdır.
- Baş ve bacaklar, koyu kahveden siyaha kadar değişmektedir.
- Kuvvetli ve koyunlar genel olarak boynuzsuzdur.
- Kuyruk ince ve uzundur.
- İlk defa damızlıkta kullanma yaşı 16–18 aydır.

HASMER GENOTİPİNİN ÖNEMLİ VERİM ÖZELLİKLERİ

Çeşitli verim özellikleri	Ortalama Değerleri
Koyunların canlı ağırlığı (kg)	60–65
Koçların canlı ağırlığı (kg)	75–85
Kuzuların yaşama gücü (%)	93–98
İkizlik oranı (%)	18–25
Kuzuların doğum ağırlığı (kg)	4.56
Sütten kesim ağırlığı (kg) (75. gün)	24.2
Kirli yapağı verimi (kg)	3.5



Hasmer Koç



Hasmer Koyun

T.C
TARIM VE KÖYİŞLERİ BAKANLIĞI

Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü

GENEL BİLGİLER

1914 yılında kurulan enstitü, 1934 yılına kadar Konya İl Özel İdaresine bağlı 'Numune Çiftlik', 1934–1984 tarihleri arasında Tarım Bakanlığı Veteriner İşleri Genel Müdürlüğü'ne bağlı Yetiştirme (HARA) ve Araştırma (Zootečni) Kurumu, 1984–1986 tarihleri arasında TİGEM'e bağlı üretim işletmesi, 1987-2002 tarihleri arasında "Bahri Dağdaş Milletlerarası Kışlık Hububat Araştırma Merkezi" ve "Konya Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü" olarak iki Enstitü şeklinde çalışmalarına devam etmiş ve 10.06.2002 tarihinde iki enstitü birleştirilerek "Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü" adı altında çalışmalarını sürdürmektedir.

ENSTİTÜNÜN GÖREVLERİ

Görev alanı: Orta Anadolu ve Geçit Bölgeleri

Görevleri:

- Tarla bitkilerinde (tahıllar, çayır-mera yem bitkileri, endüstri bitkileri ve yemeklik dane baklagiller) kuru ve sulu şartlara uygun çeşit geliştirmek,
- Tarla bitkilerinde kalite, hastalıklara ve zararlılara dayanıklılık, yetiştirme teknikleri ve sosyoekonomisi üzerine araştırmalar yapmak,
- Uluslararası Kışlık Buğday Geliştirme Programının (IWWIP) ülkesel koordinatörlüğünü yürütmek,
- Bitkisel ve hayvancılık araştırmaları konusunda ulusal ve uluslararası eğitim, konferans ve sempozyum faaliyetleri düzenlemek veya katılmak,
- Bitkisel ve hayvancılık araştırmaları konusunda diğer enstitüler ile bilgi ve materyal değişimi yapmak,
- Büyükbaş, küçükbaş ve kanatlı hayvanlarda biyoteknoloji, ıslah ve yetiştirme teknikleri üzerine araştırmalar yapmak,
- Büyükbaş, küçükbaş ve kanatlı hayvanların genetik kaynaklarını korumak,
- Büyükbaş, küçükbaş ve kanatlı hayvanların beslenmesi, barınakları, refahı ve sosyoekonomisi konularında araştırmalar yapmak.

İletişim Adresi:

Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü
PK: 125
Karatay-KONYA
Tel: 0 332 355 12 90
Faks: 0 332 355 12 88
www.bahridagdas.gov.tr

KONYA İLİ DAMIZLIK KOYUN KEÇİ YETİŞTİRİCİLERİ BİRLİĞİ



Küçük İhsaniye Mah. Hazım Uluşahin İş Merkezi
A Blok Kat 4 No: 411 Selçuklu / KONYA

Tel: 0332 237 99 10
Fax: 0332 235 22 31
Web: www.konyadkkyb.org



*“yemde kalite,
kalitede istikrar,”*



ÇÖĞENLER YEM

SANAYİ VE TİCARET LTD. ŞTİ.

Emirgazi Mahallesi Sakyatan Yolu No: 98
Tel: 0.332 356 00 33 - 355 38 39 Fax: 0.332 355 35 23 KONYA
www.cogenler.com.tr • cogenler@cogenler.com.tr