



# 5. INTERNATIONAL FOOD, AGRICULTURE AND VETERINARY SCIENCES CONGRESS

17 - 19 March 2023  
Kafkas University, Kars, Türkiye

## PROCEEDINGS BOOK (VOLUME-1)



**EDITORS:**

**Prof. Dr. Tarkan ŞAHİN**  
**Ass. Prof. Mükremin ÖLMEZ**



ISBN: 978-625-367-003-0



## **5. INTERNATIONAL FOOD, AGRICULTURE AND VETERINARY SCIENCES CONGRESS**

**17 - 19 March 2023**

**Kafkas University, Kars, Türkiye**

## **PROCEEDINGS BOOK (VOLUME-1)**

**Edited by**

**Prof. Dr. Tarkan ŞAHİN**

**Ass. Prof. Mükremin ÖLMEZ**

**All rights of this book belong to IKSAD GLOBAL.**

**Without permission can't be duplicate or copied. Authors of  
chapters are responsible both ethically and juridically.**

**IKSAD Publications – 2023 ©**

**Issued: 22.03.2023**

ISBN: 978-625-367-003-0

### **CONGRESS ID**

**5. INTERNATIONAL FOOD, AGRICULTURE AND VETERINARY SCIENCES  
CONGRESS**

### **DATE-PLACE**

**17 - 19 March 2023**

**Kafkas University, Kars, Türkiye**

### **EDITOR**

**Prof. Dr. TarkanŞAHİN**

**Ass. Prof. Mükremin ÖLMEZ**

### **EVALUATION PROCESS**

**All applications have undergone a double-blind peer review process**

**TOTAL NUMBER OF PAPERS: 426**

**THE NUMBER OF PAPERS FROM TÜRKİYE: 202**

**OTHER COUNTRIES: 224**

### **PARTICIPANT COUNTRIES (38):**

**Türkiye, Azerbaijan, Pakistan, Iran, Nigeria, Romania, Algeria, Malaysia,  
Hungary, Ukraine, Republic of North Macedonia, Brasil, Spain, Kirgizistan,  
Italy, Mozambique, México, Morocco, Serbia, Russia, Indonesia, Qatar,  
Portugal, India, Kosovo, France, Turkish Republic of Northern Cyprus,  
USA, Iraq, Bénin, United Arab Emirates, Germany, Poland, Bulgaria,  
Vietnam, Bosnia & Herzegovina, France, Ethiopia**

### **Honorary Chairman**

**Prof. Dr. Hüsnü KAPU – Kafkas University, Rector**

### **Honorary Board Members**

**Prof. Dr. Mete CİHAN – Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine, Dean**

**Prof. Dr. Tarkan ŞAHİN - Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**

### **Organizing Committee Chairman**

**Ass. Prof. Mükremin ÖLMEZ – Düzenleme Kurulu Başkanı**

**Kafkas University Laboratory Animals Research and Application Centre, Director**

### **Organizing Committee Members**

**Prof. Dr. Barış SARI - Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**

**Prof. Dr. Özgür ÇELEBİ - Kafkas University Health Science Institute, Director**

**Prof. Dr. Fatih BÜYÜK - Kafkas University Livestock Research and Application Center, Director**

**Assoc. Prof. Özlem KARADAĞOĞLU - Prof. Dr. Ali Rıza AKSOY Education, Research and Practice Farm**

**Assoc. Prof. Mustafa MAKAV - Kafkas University Laboratory Animals Research and Application Centre**

**Ass. Prof. Buket BOĞA KURU - Kafkas University Laboratory Animals Research and Application Centre**

**RA. Eray BÜYÜK - Kafkas University Laboratory Animals Research and Application Centre**

### **Science and Advisory Committee Members**

**Prof. Dr. İsa ÖZAYDIN-Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**

**Prof. Dr. Gürbüz Gökçe-Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**

**Prof. Dr. Mithat ŞAHİN-Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**

**Prof. Dr. Salih OTLU-Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**

**Prof. Dr. Yavuz ÖZTÜRKLER-Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**

**Prof. Dr. Engin KILIÇ-Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**

**Prof. Dr. Mete CİHAN-Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**

**Prof. Dr. Serpil DAĞ-Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**

**Prof. Dr. Cihan KAÇAR-Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**

**Prof. Dr. Ebru KARADAĞ SARI-Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**

**Prof. Dr. Emine ATAKİŞİ-Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**

**Prof. Dr. Leyla VATANSEVER-Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**

**Prof. Dr. Nebahat BİLGE-Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**

**Prof. Dr. Erol AYDIN-Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**

**Prof. Dr. Ali YİĞİT-Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**

**Prof. Dr. Mehmet Akif YÖRÜK-Atatürk University Faculty of Veterinary Medicine**

**Prof. Dr. Zahid KAMRAN-The İslamia University of Bahawalpur Faculty of Veterinary and Animal Sciences**

**Prof. Dr. Muhammad Faisal - Director (HRIMS) Ministry of Human Rights**

**Prof Dr. Morakeng Edward Kenneth Lebaka - University of Zululand**  
**Prof. Dr. Nizami SEYIDELIYEV - Azerbaijan State Agrar University**  
**Prof. Dr. Namık MUSTAFAYEV - Azerbaijan State Agrar University**  
**Assoc. Prof. Volkan YILMAZ-Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**  
**Assoc. Prof. Semra KAYA-Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**  
**Assoc. Prof. Oğuz MERHAN-Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**  
**Assoc. Prof. Gencay Taşkın TAŞÇI-Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**  
**Assoc. Prof. Mushap KURU-Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**  
**Assoc. Prof. Ekin Emre ERKILIÇ-Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**  
**Assoc. Prof. Gülseren KIRBAŞ DOĞAN-Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**  
**Assoc. Prof. Muhammad Naeem TAHİR- The İslamia University of Bahawalpur**  
**Assoc. Prof. Abdur Rahman SIAL- Universty of Veterinary and Animal Sciences Faculty of Animal Nutrition**  
**Assoc. Prof. Tauseef-ur-Rehman-The Islamia University of Bahawalpur, Faculty of Veterinary and Animal Sciences**  
**Assoc. Prof. Songül AKIN-Dicle University**  
**Ass. Prof. Serpil ADIGÜZEL IŞIK-Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**  
**Ass. Prof. Volkan GELEN-Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**  
**Ass. Prof. Nüvit COŞKUN-Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**  
**Ass. Prof. Emin KARAKURT-Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**  
**Ass. Prof. Uğur AYDIN-Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**  
**Ass. Prof. Nilgün AYDIN-Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**  
**Ass. Prof. Enes AKYÜZ-Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**  
**Ass. Prof. Neslihan ÖLMEZ- Kafkas University Vocational High School**  
**Ass. Prof. Murat Can DEMİR-Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**  
**Ass. Prof. Mustafa Reha COŞKUN-Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**  
**Ass. Prof. Mert SEZER-Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**  
**Ass. Prof. Noorin ZAFAR-Aligarh Muslim University Faculty of Life Sciences**  
**Ass. Prof. Buket BOĞA KURU - Kafkas University Laboratory Animals Research and Application Centre**  
**Dr. Ivan Pavlovic - Scientific Institute of Veterinary Medicine of Serbia**

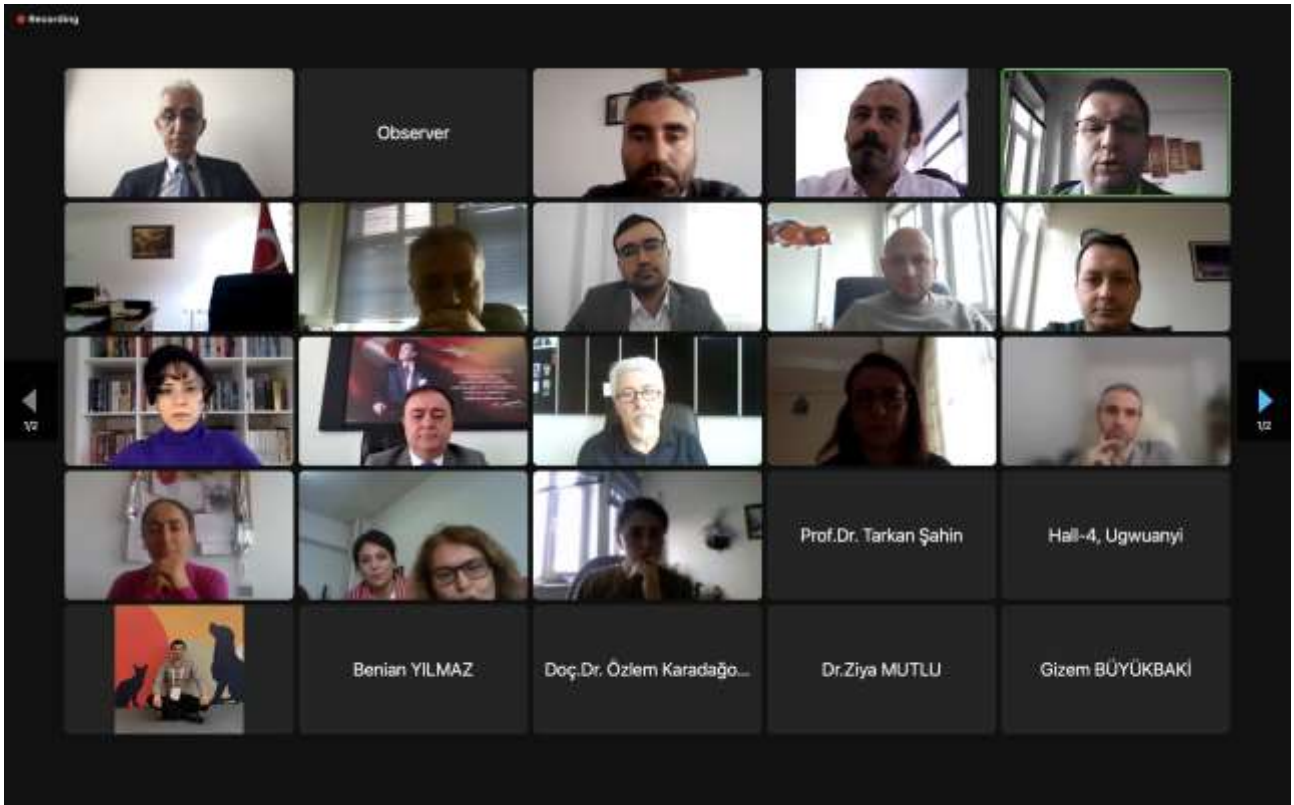
**Secretary**

**Lecturer Roshan RİAZ- Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**  
**RA. Lale BAŞER- Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**  
**RA. Yusuf Umut BATI- Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**  
**RA. Tuğçe Merve BERBEROĞLU- Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**

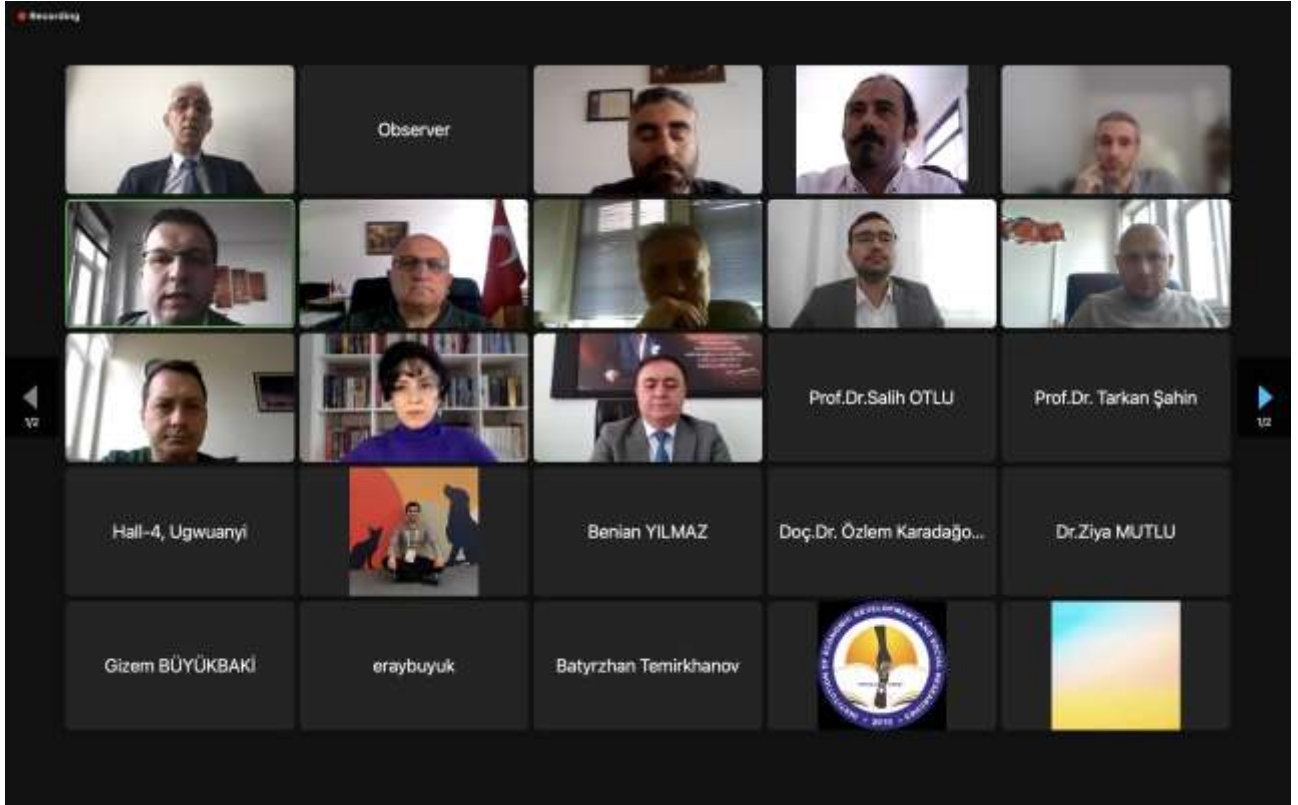
**CONGRESS COORDINATOR**

**Alina AMANZHLOVA**

## PHOTO GALLERY









Kayıtlıdır... | **hall5-Abedeh Rezaei ekranını görüntüleyebilirsiniz** | Seçenekleri Görüntüle

Kalan: 09:44:50 | Görüntüle

# Investigation of minocycline effect on expression changes of *BCL-2* protooncogene on MCF7 breast cancer cells.

Presenter : Abedeh Rezaei  
Master: Dr. Mohammad Khalaj-Kondori  
March 2023

1 atamınray katılmış | [trpt.com](#)

Ses Aç | Videoyu Beğle | Katılımcılar | Sohbet | **Ekran Paylaşımı** | Kaydı Duraklat/Durdur | Ara Odalar | Reaksiyonlar | Uygulamalar

**Oda İçin Çık**

Dr. Ali Hader (Moderatör Se...)  
Hall-5 Observer  
Hall-5 Observer  
A  
Anam Shvazad-Hall 5  
**hall5-Abedeh R...**  
hall5-Abedeh Rezaei  
aYESHA  
aYESHA

Kayıtlıdır... | **Immacolata Belvisio ekranını görüntüleyebilirsiniz** | Seçenekleri Görüntüle

Kalan: 09:33:21 | Görüntüle

# 5<sup>th</sup> INTERNATIONAL FOOD, AGRICULTURE AND VETERINARY SCIENCES CONGRESS

• 17 - 19 March 2023 Kafkas University, Kars, Türkiye

Web Page: [www.gthk.org](http://www.gthk.org)  
E-Mail Adress: [bilgi@iaksadkongre.org](mailto:bilgi@iaksadkongre.org)

5<sup>th</sup> International Food, Agriculture and Veterinary Sciences Congress  
Kafkas University, Kars, Turkey  
17-19 March 2023

Web Page: [www.gthk.org](http://www.gthk.org)  
E-Mail Adress: [bilgi@iaksadkongre.org](mailto:bilgi@iaksadkongre.org)

Web Page: [www.gthk.org](http://www.gthk.org)  
E-Mail Adress: [bilgi@iaksadkongre.org](mailto:bilgi@iaksadkongre.org)

Ses Aç | Videoyu Beğle | Katılımcılar | Sohbet | **Ekran Paylaşımı** | Kaydı Duraklat/Durdur | Ara Odalar | Reaksiyonlar | Uygulamalar

**Oda İçin Çık**

Wendy J. Romani  
Hall-5 Observer  
Hall-5 Observer  
Anna Maria Sacco  
Anna Maria Sacco  
yousef vatanpar...  
yousef vatanpar...  
**Immacolata Bel...**  
Immacolata Belvisio

Hall 5, Habab Yasim ekranını görüntüleyiniz

Seçenekleri Gözetile

Katılımlar: 09:25:38

Görünüm

**Awareness, Attitudes And Practices Towards COVID-19 Among Asir Region Residents, Saudi Arabia**

HABAB MEDWAN YASIM  
KING FAHAD UNIVERSITY  
SAUDI ARABIA

Hall 5 - Sulaiman Umar Adan  
Hall-5 Observer  
Mohamed Saed Ali  
Hall-5, Habab Y...  
Dr. C. Mohan  
yousef vatanparast

Zoom Tools: Sesi Aç, Videoyu Başlat, Katılımlar, Sohbet, Ekran Paylaşımı, Kaydı Duraklat/Durdur, Ara Odalar, Reaksiyonlar, Uygulamalar, Oturum Çık

Zoom Toplam - Hall 5

Hall 5, Habab Yasim ekranını görüntüleyiniz

Seçenekleri Gözetile

Katılımlar: 09:33:07

coordinator: Ali...  
coordinator: Abu Anas...  
Hall-5, Habab Yasim  
Hall-5, Cengiz Cankaya  
Hall-5, Cengiz Cankaya  
Ayye Karacah

- Değişmekte olan beslenme alışkanlıklarına rağmen tahıl ürünleri yaygın şekilde tüketilmeye devam etmektedir.
- Tahıl ürünlerinin zenginleştirilmesinde baklagil unları sahip oldukları bileşim özellikleri sayesinde fazlaca tercih edilen kaynaklardan bir tanesi haline gelmiştir.

- Despite changing dietary habits, cereal products continue to be widely consumed.
- Thanks to their nutritional properties, legume flours have become one of the most preferred enrichment materials for the cereal products.

Katılımlar (17)

Onur K.  
Hall-1234567890  
Prof.Dr.Sahin Ozturk  
Aydin USTUN  
Gökben Koyuncu  
Hall-1 Ayşenur İnce  
Hall-1 Bülge Merve Serttaş  
Hall-1 Merve Özlü  
Hall-1 Betül  
Hall-1 Candan Candan  
Hall-1 Çiğdem Çelbi  
Hall-1 Emine Merve ÇAMAK  
Hall-1 Tuğba KILIÇ  
Meliha Çelik  
Özlem Kalkanlı  
Feyza ÇAKIR

Zoom Tools: Sesi Aç, Videoyu Başlat, Katılımlar, Sohbet, Ekran Paylaşımı, Kaydı Duraklat/Durdur, Ara Odalar, Reaksiyonlar, Uygulamalar, Oturum Çık



Zoom Toplantı - Hall 3

Müziğinizi için Orijinal Ses Kapak Kaydediliyor... Katılımcılar

Katılımcılar (10)

Q katılımcı bul

H3 H... (Ortak oturum sahibi, ben) [Ses] [Gör] [Kapat]

L Lale [Ses] [Gör] [Kapat]

B Moderator Hall-3 Prof. Dr. Emine ATA... [Ses] [Gör] [Kapat]

SA Serpil AVGÖRMEZ [Ses] [Gör] [Kapat]

BI emine inçilay [Ses] [Gör] [Kapat]

H3 Hünel Gansız [Ses] [Gör] [Kapat]

HD Hall-3, Dr. Canan Keser Nizamk... [Ses] [Gör] [Kapat]

O Özlem KARADAĞOĞLU-SİHD [Ses] [Gör] [Kapat]

PO Prof. Dr. Dilek ÇELİKLER [Ses] [Gör] [Kapat]

SH S3, Hall 3, Fatma Gönel SEZGİN [Ses] [Gör] [Kapat]

Tümünü Sesizle Al

Zoom Toplantı - Hall 3

Müziğinizi için Orijinal Ses Kapak Kaydediliyor... Katılımcılar

Katılımcılar (10)

Q katılımcı bul

H3 H... (Ortak oturum sahibi, ben) [Ses] [Gör] [Kapat]

L Lale [Ses] [Gör] [Kapat]

B Moderator Hall-3 Prof. Dr. Emine ATA... [Ses] [Gör] [Kapat]

SA Serpil AVGÖRMEZ [Ses] [Gör] [Kapat]

BI emine inçilay [Ses] [Gör] [Kapat]

H3 Hünel Gansız [Ses] [Gör] [Kapat]

HD Hall-3, Dr. Canan Keser Nizamk... [Ses] [Gör] [Kapat]

O Özlem KARADAĞOĞLU-SİHD [Ses] [Gör] [Kapat]

PO Prof. Dr. Dilek ÇELİKLER [Ses] [Gör] [Kapat]

SH S3, Hall 3, Fatma Gönel SEZGİN [Ses] [Gör] [Kapat]

Tümünü Sesizle Al

Zoom Toplantı

Müziğinizi için Orijinal Ses Kapak Kaydediliyor... Katılımcılar

Katılımcılar (20)

Q katılımcı bul

H H (Ortak oturum sahibi, ben) [Ses] [Gör] [Kapat]

Arap.Gör.Mehmet Berat NAYIR [Ses] [Gör] [Kapat]

H3 Hall 3, Session 2, Bilge Kaan Te... [Ses] [Gör] [Kapat]

HA Hall-3 Eres Akyüz [Ses] [Gör] [Kapat]

B İmer bany ince [Ses] [Gör] [Kapat]

Arap.Gör.Mehmet Berat NAYIR [Ses] [Gör] [Kapat]

BD BELGİ DİREN SÖRÜCÜ [Ses] [Gör] [Kapat]

HM Hall-3 Mustafa ÖSDÜL [Ses] [Gör] [Kapat]

HY Hall-3 Yağmur ÇETİNKAYA [Ses] [Gör] [Kapat]

HF Hall-3, Fatma İZELİR [Ses] [Gör] [Kapat]

HS Hall-3, Şahin ÇAKIR [Ses] [Gör] [Kapat]

HIN Herne Nur Kuruçay [Ses] [Gör] [Kapat]

Hayranisa Boştan Yörü [Ses] [Gör] [Kapat]

O oktay.kurt [Ses] [Gör] [Kapat]

Tümünü Sesizle Al

Zoom Toplantı

Müziğinizi için Orijinal Ses Kapak Kaydediliyor... Katılımcılar

Katılımcılar (20)

Q katılımcı bul

H H (Ortak oturum sahibi, ben) [Ses] [Gör] [Kapat]

Arap.Gör.Mehmet Berat NAYIR [Ses] [Gör] [Kapat]

H3 Hall 3, Session 2, Bilge Kaan Te... [Ses] [Gör] [Kapat]

HA Hall-3 Eres Akyüz [Ses] [Gör] [Kapat]

B İmer bany ince [Ses] [Gör] [Kapat]

Arap.Gör.Mehmet Berat NAYIR [Ses] [Gör] [Kapat]

BD BELGİ DİREN SÖRÜCÜ [Ses] [Gör] [Kapat]

HM Hall-3 Mustafa ÖSDÜL [Ses] [Gör] [Kapat]

HY Hall-3 Yağmur ÇETİNKAYA [Ses] [Gör] [Kapat]

HF Hall-3, Fatma İZELİR [Ses] [Gör] [Kapat]

HS Hall-3, Şahin ÇAKIR [Ses] [Gör] [Kapat]

HIN Herne Nur Kuruçay [Ses] [Gör] [Kapat]

Hayranisa Boştan Yörü [Ses] [Gör] [Kapat]

O oktay.kurt [Ses] [Gör] [Kapat]

Tümünü Sesizle Al



## 5. INTERNATIONAL FOOD, AGRICULTURE AND VETERINARY SCIENCES CONGRESS

17 - 19 March 2023

Kafkas University, Kars, Türkiye

# CONGRESS PROGRAM

Meeting Id: 842 7974 2853

Passcode: 171819

<https://us02web.zoom.us/j/84279742853?pwd=VU9RMzUyc2FIRFFFTbytXSXJRODk2UT09>



### PARTICIPANT COUNTRIES:

Türkiye, Azerbaijan, Pakistan, Iran, Nigeria, Romania, Algeria, Malaysia, Hungary, Ukraine, Republic of North Macedonia, Brasil, Spain, Kirgizistan, Italy, Mozambique, México, Morocco, Serbia, Russia, Indonesia, Qatar, Portugal, India, Kosovo, France, Turkish Republic of Northern Cyprus, USA, Iraq, Bénin, United Arab Emirates, Germany, Poland, Bulgaria, Vietnam, Bosnia & Herzegovina, France, Ethiopia

**ÖNEMLİ, DİKKATLE OKUYUNUZ LÜTFEN / IMPORTANT, PLEASE READ CAREFULLY****Önemli, Dikkatle Okuyunuz Lütfen**

- ✓ Kongremizde Yazım Kurallarına uygun gönderilmiş ve bilim kurulundan geçen bildiriler için online (video konferans sistemi üzerinden) sunum imkanı sağlanmıştır.
- ✓ Online sunum yapabilmek için <https://zoom.us/join> sitesi üzerinden giriş yaparak "Meeting ID or Personal Link Name" yerine ID numarasını girerek oturuma katılabilirsiniz.
- ✓ Zoom uygulaması ücretsizdir ve hesap oluşturmaya gerek yoktur.
- ✓ Zoom uygulaması kaydolmadan kullanılabilir.
- ✓ Uygulama tablet, telefon ve PC'lerde çalışıyor.
- ✓ Her oturumdaki sunucular, sunum saatinden 15 dk öncesinde oturuma bağlanmış olmaları gerekmektedir.
- ✓ Tüm kongre katılımcıları canlı bağlanarak tüm oturumları dinleyebilir.
- ✓ Moderatör – oturumdaki sunum ve bilimsel tartışma (soru-cevap) kısmından sorumludur.

**Dikkat Edilmesi Gerekenler- TEKNİK BİLGİLER**

- ✓ Bilgisayarınızda mikrofon olduğuna ve çalıştığına emin olun.
- ✓ Zoom'da ekran paylaşma özelliğine kullanabilmelisiniz.
- ✓ Kabul edilen bildiri sahiplerinin mail adreslerine Zoom uygulamasında oluşturduğumuz oturuma ait ID numarası gönderilecektir.
- ✓ **Katılım belgeleri kongre sonunda tarafınıza pdf olarak gönderilecektir**
- ✓ Kongre programında yer ve saat değişikliği gibi talepler dikkate alınmayacaktır

**IMPORTANT, PLEASE READ CAREFULLY**

- ✓ To be able to attend a meeting online, login via <https://zoom.us/join> site, enter ID "Meeting ID or Personal Link Name" and solidify the session.
- ✓ The Zoom application is free and no need to create an account.
- ✓ The Zoom application can be used without registration.
- ✓ The application works on tablets, phones and PCs.
- ✓ The participant must be connected to the session 15 minutes before the presentation time.
- ✓ All congress participants can connect live and listen to all sessions.
- ✓ Moderator is responsible for the presentation and scientific discussion (question-answer) section of the session.

**Points to Take into Consideration - TECHNICAL INFORMATION**

- ✓ Make sure your computer has a microphone and is working.
- ✓ You should be able to use screen sharing feature in Zoom.
- ✓ **Attendance certificates will be sent to you as pdf at the end of the congress.**
- ✓ Requests such as change of place and time will not be taken into consideration in the congress program.

**Before you login to Zoom please indicate your name\_surname and HALL number,  
exp. Hall-1, Ali ÖZDEMİR**



**Meeting ID: 842 7974 2853**

**Passcode: 171819**

**5. ULUSLARARASI  
GIDA, TARIM VE  
VETERİNER  
BİLİMLERİ KONGRESİ**

Kafkas University, Kars, Türkiye

17-19 Mart 2023

**5. INTERNATIONAL  
FOOD, AGRICULTURE  
AND VETERINARY  
SCIENCES CONGRESS**

Kafkas University, Kars, Türkiye

17 - 19 March 2023



**-Opening Ceremony-**

17.03.2023

Time (Ankara): 11:00-12:00

**CHAIRMAN OF ORGANIZING COMMITTEE**

Assist. Prof. Mükremin ÖLMEZ – Kafkas University Laboratory Animals Research and Application Centre, Director

\*\*\*

**PRESIDENT OF IKSAD INSTITUTE**

Dr. Mustafa Latif EMEK

\*\*\*

**HONORARY PRESIDENT OF THE CONFERENCE**

Prof. Dr. Hüsnü KAPU – Kafkas University, Rector

\*\*\*

**Session-1, Hall-1****17.03.2023****Moderator: Prof. Dr. Murat GÜLMEZ****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 14:00 – 16:00**

Title	Author(s)	Affiliation
EFFECTS OF PASTEURIZED SHEEP'S MILK USE ON PRODUCTION AND MATURATION OF SIIRT HERBY CHEESE	Murat GÜLMEZ Kübranur YILDIZ BAYHAN Sefa ÜNER	Siirt University, Türkiye
MORINGA OLEIFERA AS A FUNCTIONAL FOOD COMPONENT	Zeliha ERASLAN Özge SÜFER	Osmaniye Korkut Ata University, Türkiye
MEAT DEFECTS (MYOPATHY) IN BROILERS AND PRACTICES FOR REDUCING	Assist. Prof. Ahmet YAMAN	Bolu Abant İzzet Baysal University, Türkiye
THE RISING TREND OF PLANT-BASED MILK AND BY COMPARISON WITH ANIMAL SOURCES OF MILK	Assist. Prof. Hülya YAMAN	Bolu Abant İzzet Baysal University, Türkiye
THE EFFECT OF POPPY PULP ON SOME TEXTURAL AND SENSORY PROPERTIES OF PROBIOTIC WHITE CHEESE TELEME	Naciye Selinay GÜN Dr. Zehra ALBAY Prof. Dr. Bedia ŞİMŞEK	Süleyman Demirel University, Türkiye
THE EFFECT OF COOLING RATE ON NUTRITIONAL VALUE OF HOT MEALS	Aysu Çağla YENISOY Cihan Kaan COŞKUN Neşe ŞAHİN YEŞİLÇUBUK	İstanbul Teknik University, Türkiye
CLEAN LABEL ALTERNATIVES OF NITRATES AND NITRIDES USED IN MEAT AND MEAT PRODUCTS	Assist. Prof. Betül KARSLIOĞLU	Hasan Kalyoncu University, Türkiye
USAGE OF PROTEIN BASED NANOFIBER IN FOOD INDUSTRY	Assist. Prof. Elif Tuğçe AKSUN TÜMERKAN	Ankara Yıldırım Beyazıt University, Türkiye
NUTRITIONAL VALUE OF SHRIMP BOILING WATER AND POTENTIAL USAGE IN FOOD INDUSTRY	Assist. Prof. Elif Tuğçe AKSUN TÜMERKAN	Ankara Yıldırım Beyazıt University, Türkiye

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.**

**Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.**

**Kindly keep your cameras on till the end of the session.**



**Session-1, Hall-2****17.03.2023****Moderator: Prof. Dr. Mitat ŞAHİN****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 14:00 – 16:00**

Title	Author(s)	Affiliation
INVESTIGATION of Salmonella spp., L.monocytogenes and S.aureus PRESENCE in HALLOUMI/HELLIM CHEESE SOLD in NORTHERN CYPRUS	Fatma Işın MAHAN Assoc. Prof. Beyza H. ULUSOY	Tarım Ve Doğal Kaynaklar Bakanlığı, Lefkoşa Kktc Yakın Doğu Üniversitesi Lefkoşa Kktc
SOME QUALITY CHANGES OCCURRING IN POTATOES STORED AT DIFFERENT TEMPERATURES	Hafize CİN Assoc. Prof. Engin DEMİRAY	Pamukkale University, Türkiye
PSYCHOBIOLOGICS IN FERMENTED FOODS	Neslihan AYAĞ Prof. Dr. Elif DAĞDEMİR Dr. Sümeyra IŞIK	Atatürk University, Türkiye
COLD BREW COFFEE: CHEMICAL AND SENSORY PROPERTIES	Ceyda DADALI Assoc. Prof. Emine NAKİLCİOĞLU	Ege University, Türkiye
THE NUTRITIVE VALUE AND HEALTH BENEFITS OF TIGERNUT ( <i>Cyperus esculentus</i> L.)	Assoc. Prof. Emine NAKİLCİOĞLU Ceyda DADALI	Ege University, Türkiye
METABIOLOGICS	Berfin ELMAS DEMİRALP Prof. Dr. Zerrin ERGİNKAYA	Çukurova University, Türkiye
POSTBIOTICS: HEALTH EFFECTS AND POTENTIALITY IN FUNCTIONAL FOODS	Dr. Vildan AKDENİZ	Ege University, Türkiye
PROBIOTICS AND MICROENCAPSULATION APPLICATIONS	Assist. Prof. Nurdan ARSLANKOZ İŞLEYEN Lect. Dr. Muhammet Fatih İŞLEYEN	Bolu Abant İzzet Baysal University, Türkiye

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.****Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.****Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-1, Hall-3****17.03.2023****Moderator: Assoc. Prof. Mustafa Makav****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 14:00 – 16:00**

Title	Author(s)	Affiliation
EFFECT OF OSMOTIC DEHYDRATION WITH VACUUM PRETREATMENT ON MASS EXCHANGE AND DRYING KINETICS OF RED BEET	Dr. Latife Betül GÜL	Giresun University, Türkiye
EFFECT OF NARINGENIN ON N <sup>E</sup> -(CARBOXYMETHYL) LYSINE (CML) FORMATION IN MEATBALLS	Ress. Assist. Dr.Mehmet Emin AYDEMİR Assoc. Prof. Serap KILIÇ ALTUN Assoc. Prof. Kasım TAKIM	Harran University, Türkiye
ANTIMICROBIAL EFFECT OF HERBAL LIQUID EXTRACTS ON COLD SMOKED SALMON ( <i>SALMO SALAR</i> )	Dr. Mutlu PILAVTEPE-ÇELİK İsmail ACAR	Kocaeli University, Türkiye
EFFECT OF HIGH PRESSURE HOMOGENIZATION ON CONFORMATIONAL AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF SESAME PROTEIN ISOLATE	Tuğba BASKINCI Osman GÜL	Kastamonu University, Türkiye
BIOACTIVE PROPERTIES OF TARRAGON ( <i>ARTEMISIA DRACUNCULUS</i> L.) EXTRACT AND ESSENTIAL OIL	Buse DURMAZ Gülten TİRYAKİ GÜNDÜZ	Ege University, Türkiye
THE EFFICACY OF ULTRASOUND TREATMENT COMBINED WITH PLANT MATERIALS ON FOODBORNE PATHOGENS	Prof. Dr. Gülten TİRYAKİ GÜNDÜZ Ayça KORKMAZ VURMAZ Özge AKGÜL	Ege University, Türkiye
EVALUATION OF SMOKED FISH ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ) BY-PRODUCTS IN NOODLE MANUFACTURING	Bekir TUFAN	Karadeniz Teknik University, Türkiye
CLEAN LABELING OF BAKERY PRODUCTS	Assist. Prof. Görkem ÖZÜLKÜ	Yıldız Teknik University, Türkiye
MULTIDISCIPLINARY INVESTIGATION OF ANOREXIA NERVOSA	Dr. Füsün SUNAR Dr. Umay Bilge BALTACI	KTO Karatay University, Türkiye Ahi Evran University, Türkiye

All participants must join the conference 10 minutes before the session time.

Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.

Kindly keep your cameras on till the end of the session.

**Session-1, Hall-4****17.03.2023****Moderator: Prof. Dr. Fatih BÜYÜK****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 14:00 – 16:00**

Title	Author(s)	Affiliation
EFFECT OF CHICKPEA SEED TREATMENT WITH TRICHODERMA ASPERELLUM IN THE CONTROL OF FUSARIUM EQUISETI, THE CAUSAL AGENT OF ROOT ROT	Adnani M, El Hazzat N, Msairi S, El Alaoui MA, Mouden N, Selmaoui K, Benkirane R, OuazzaniTouhami A, Douira A	Université Ibn Tofail, Morocco Université Mohammed 1er, Morocco
COMPARATIVE PATHOGENIC CAPACITY OF THREE FUNGAL SPECIES ONTO DETACHED LEAVES OF SABRINA STRAWBERRY VARIETY	Najoua Mouden, Amina Ouazzani Touhami, Benkirane Rachid, Karima Selmaoui, Douira allal	Université Mohammed 1er Oujda, Maroc (Morocco) Université Ibn Tofail, Kénitra, Maroc (Morocco)
MORPHOBIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE REDTAIL CATFISH PHRACTOCEPHALUS HEMIOLIOPTERUS (BLOCH & SCHNEIDER, 1801)	Vitalii Sapunov Ph.D. Oleh Marenkov	Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine
BACTERIOLOGICAL QUALITY OF RAW OVINE MILK	Ferenc Peles Andualem Tonamo István Komlósi	University of Debrecen, Debrecen, Hungary
FOOD AND VECTOR-BORNE PARASITIC INFECTIONS	Yusuf Muhammad Sanyinna, Ibrahim Shuaibu, Ridwan Nuhu Ahmed, Yusuf Ibrahim Alhaji, Nasiru Mohammed, Amina Muhammad	Nigerian Army University Biu, Nigeria. Kebbi State University of Science and Technology, Nigeria. Sokoto State University, Nigeria. Umaru Ali Shinkafi Polytechnic, Nigeria. State College of Basic and Remedial Studies, Sokoto, Nigeria.
ACRYLAMIDE: THE DANGER IN OUR DAILY FOOD	Toader George, Palade Aurelian Relu, Toader Elena Violeta, Ilie Leonard	USAMV Bucharest, Bucharest, Romania Academy of Economic Studies, Bucharest, Romania
DISTRIBUTION OF PARASITES OF MONOGENEA CLASS IN THE FISH OF PRIDNEPROVSKY REGION	Anna Iliukhina Oleh Marenkov Oleg Shugurov	Oles Honchar Dnipro National University, Ukraine.

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.****Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.****Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-1, Hall-5****17.03.2023****Moderator: Shaukat Ali****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 14:00 – 16:00**

Title	Author(s)	Affiliation
GROWTH AND YIELD OF RICE USING MAJA FRUIT WASTE LIQUID ORGANIC FERTILIZER	Purwaningsih, Sri Rahayu	Tanjungpura University, Pontianak, West Kalimantan Pancabhakti University, Pontianak, West Kalimantan
LISTERIA MONOCYTOGENES IN FOOD PRODUCTS IN BRAZIL (2017-2022): A SYSTEMATIC REVIEW	Paula Milena Melo Casais, Tonya Azevedo Duarte	Universidade Federal da Bahia
BIOLOGICAL APPLICATIONS OF PROBIOTICS IN AQUACULTURE AND FISH FARMING INDUSTRIES	Saiqa Andleeb, Sundas Nasreen, Shaukat Ali	University of Azad Jammu and Kashmir / Government College University, Lahore, Pakistan
A NEW PERSPECTIVE OF FOOD REGULATION: FOOD SAFETY AND THE USE OF BLOCKCHAIN	Maura Mattalia Eugenia Jona Ludovica Lano	University of Turin
BIOACTIVE COMPOUNDS OF NUGGET HOP FOR COSMETIC USE	Briolanja DOS SANTOS, Vanessa PAULA, Luís PEDRO, Olívia R. PEREIRA, Hugo GOES, Susana M. CARDOSO, Maria João SOUSA	Instituto Politécnico de Bragança, Portugal University of Lisbon, Portugal University of Aveiro, Portugal
NUTRITIONAL PROFILE AND BIOACTIVE CONSTITUENTS OF POMELO FRUIT	Simple Sharma, Barinderjit Singh	I. K. Gujral Punjab Technical University, India
NUTRITIONAL PROFILE AND BIOACTIVE CONSTITUENTS OF POMELO FRUIT	Simple Sharma, Barinderjit Singh	I. K. Gujral Punjab Technical University, India
HEAVY METALS IN HEN EGG, AMOUNT AND HAZARDS	Sara Bazzaz	Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.**

**Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.**

**Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-1, Hall-6****17.03.2023****Moderator: Favour Chukwuemeka Uroko****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 14:00 – 16:00**

Title	Author(s)	Affiliation
PLASMA AS A PROMISING TECHNOLOGY IN THE FOOD SYSTEMS: STATE OF THE ART AND NEW TRENDS	Hedayat Hosseini, Fatemeh Habibollahi, Bahare Mohammadi, Amin Abbasi	Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
DEVELOPMENT OF EDIBLE FOOD PACKAGING FILMS FROM FINGER MILLET STARCH	Naina Gautam Raj Kumar Rishabh Kumar Saran Shashikant Yadav	Research Scholar, Dr B R Ambedkar National Institute of Technology Jalandhar, Department of Chemical Engineering, Jalandhar (Punjab) India Scientist, Central Building Research Institute (CBRI), Roorkee (Uttarakhand) India Assistant Professor, Chitkara University Department of Civil Engineering, CUIET-Applied Engineering, (Punjab) India Assistant Professor, Dr B R Ambedkar National Institute of Technology Jalandhar, Department of Chemical Engineering, Jalandhar (Punjab) India
ECONOMICS OF SELECTED VEGETABLES IN KHYBER PAKHTUNKHWA-PAKISTAN	Auzair Javaid Butt, Irfan Ullah, Harun Uçak	The University of Agriculture, Pakistan. Alanya Alaaddin Keykubat University, Türkiye
ASSESSING BIO-DIVERSE FOODS IN DIETARY INTAKE SURVEYS-A CASE STUDY CONSIDERING RANDOM SELECTED SAMPLES	Samanda Gjoni, Flavia Gjata, Florida Hajderaj, Emirjana Hasanaj, Klodjana Lamaj, Aurora Manaj, Manjola Sala, Megisa Sulenji, Nertila Mucollari	Agricultural University of Tirana, Tirana, Albania
MONITORING THE OCCURANCE OF OCHRATOXIN A IN GREEN AND ROASTED COFFEE IN IRAN-SHIRAZ MARKET BY USING HPLC-FLD	Marzieh Rashedinia, Zahra Hasanzadeh, Shoreh Alipour, Zeinab Bedroud, Mohammad javad Khoshnoud	Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
PROBIOTIC EDIBLE FILM WITH AQUEOUS CLOVE EXTRACT	Lejaniya Abdul Kalam Saleena, Liew Phing Pui	UCSI University Kuala Lumpur, Malaysia
FOOD SECURITY AND RELIGIOUS CONFLICT IN NIGERIA: CHALLENGING THE CHALLENGES	Favour Chukwuemeka Uroko Gladys Akabike	University of Nigeria Nsukka
LCMS STUDY OF THE INDIGENOUS FRUITS AND VEGETABLES OF INDIAN HIMALAYAN REGION	Murtaza Gani, Tanveer Alam, Khalid ul Islam Rather	HNB Garhwal University Srinagar (Garhwal) Utrtrakhand India. High End Instrumentation Lab, India

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.****Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.****Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-2, Hall-1****17.03.2023****Moderator: Assoc. Prof. Mehmet ARSLAN****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 16:30 – 18:30**

Title	Author(s)	Affiliation
UNDERSTANDING FOOD LITERACY: A REVIEW	Dr. Banu Akgün Nurcan AYŞAR GÜZELSOY İlkem DEMİRKESEN MERT Vér ANDRÁS Gabriella JANKÓ-KNAPP Angel Martinez SANMARTÍN Ahmet BUDAKLIER	Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araşt. Enst. Müd., Bursa, Türkiye Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Ankara, Türkiye. Széchenyi István University, Győr, Macaristan. National Technological Centre for the Food and Canning Industry, Murcia, İspanya
DETERMIANTION OF MICROBIAL FLORA IN TRADITIONALLY PRODUCED SALTED FISH IN TRABZON AND ARTVIN PROVINCES	Assist. Prof. Nurcan ERBİL Assoc. Prof. Yusuf ALAN	Ardahan University, Türkiye
DETERMINATION OF SOME BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF <i>CUCURBITA MOSCHATA</i> DUCESNE FRUIT GROWN IN THE TBILISI REGION	Assoc. Prof. Zehra Tuğba MURATHAN Assist. Prof. Nurcan ERBİL Assoc. Prof. Mehmet ARSLAN	Ardahan University, Türkiye
SUSTAINABLE TECHNOLOGIES TO IMPROVE THE OXIDATIVE STABILITY OF FISH OIL	Esra SOLAK Hasene Keskin ÇAVDAR Sibel FADİLOĞLU	Gaziantep University, Türkiye.
FUNCTIONAL PASTA PRODUCTION WITH USED COFFEE GROUND	Lect. Kübra TOPALOĞLU GÜNAN Lect. Tuğçe BOĞA Ress. Assist. İkbal Ertuğrul DİKEÇ Assoc. Prof. Perihan YOLCI ÖMEROĞLU Assoc. Prof. Ömer Said TOKER Prof. Dr. Enes DERTLİ	Maltepe University, Türkiye Uludağ University, Türkiye Yıldız Teknik University, Türkiye
NUTRITIONAL VALUE AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF AMARANT SEED	Murat ATASEVEN Prof. Dr. Osman KOLA Assoc. Prof. Oktay TOMAR	Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji University, Türkiye Kocaeli University, Türkiye
GENERAL PROPERTIES OF AMARANTH AND THE CHEMICAL COMPOSITION OF SEEDS	Murat ATASEVEN Prof. Dr. Osman KOLA Assoc. Prof. Oktay TOMAR	Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji University, Türkiye Kocaeli University, Türkiye
DETERMINATION OF FUNGAL FLORA OF CHEESES THAT MADE AT HOME AND SOLD COMMERCIALY IN ÇANKIRI PROVINCE	Aysu AYTAÇ Deniz ÇAKAR Beyza AKSOY Seçil Akıllı ŞİMŞEK	Çankırı Karatekin University, Türkiye

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.****Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.****Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-2, Hall-2****17.03.2023****Moderator: Prof. Dr. Serpil DAĞ****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 16:30 – 18:30**

Title	Author(s)	Affiliation
THE INHIBITION EFFECTS OF SOME PHENOLIC COMPOUNDS ON BOVINE MILK LPO (LACTOPEROXIDASE) ENZYME ACTIVITY	Dr. Serpil GERNİ Dr. Cansu ÖZTÜRK Prof. Dr. Hasan ÖZDEMİR Prof. Dr. Ö. İrfan KÜFREVİOĞLU	Atatürk University, Türkiye
THE EFFECT OF PACKAGING TYPE AND STORAGE CONDITIONS ON MICROELEMENT CONTENT OF TRADITIONALLY PRODUCED MALATYA CHEESE	Doğan YAŞAR Şenol KÖSE	Van Yüzüncü Yıl University, Türkiye
DEVELOPMENT OF COMPOSITE FOOD PACKAGING MATERIALS FROM SYNTHETIC AND BIODEGRADABLE POLYMERS WITH IMPROVED ENVIRONMENTAL PROPERTIES	Burcu COŞKUN Adnan Fatih DAĞDELEN	Bursa Teknik University, Türkiye
DEEP EUTECTIC SOLVENTS AND UTILIZATION IN EXTRACTION OF FOOD COMPONENTS	Ress. Assist. Dr. H. Betül YELER	Pamukkale University, Türkiye
ESCHERICHIA COLI IN THE BACTERIOLOGICAL QUALITY OF WATER	Prof. Dr. Mustafa GÜRSES Ress. Assist. Pınar ŞEKERCİ KELEŞ	Atatürk University, Türkiye Ardahan University, Türkiye
ENCAPSULATION APPLICATIONS IN FOOD TECHNOLOGY	Öğretim Gör. Kübra KORKMAZ	Batman University, Türkiye
PRODUCTION OF MICROENCAPSULATED CREAM POWDER BY SPRAY DRYING METHOD	Murat Emre TERZİOĞLU Hüsamettin Tunç İhsan BAKIRCI	Atatürk University, Erzurum, Türkiye.

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.****Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.****Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-2, Hall-3****17.03.2023****Moderator: Prof. Dr. Nebahat BİLGE****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 16:30 – 18:30**

Title	Author(s)	Affiliation
PLANT-BASED PROTEINS AND THEIR USAGE IN THE FOOD INDUSTRY	Gamze Nur OLGUN Ress. Assist. İzzet TÜRKER Assoc. Prof. Hilal İŞEROĞLU	Tokat Gaziosmanpaşa University, Türkiye
ANTIMICROBIAL RESISTANCE IN FOOD PATHOGENS	Prof. Dr. Nebahat BİLGE Ress. Assist. Gönül Damla ALTUNTAŞ	Kafkas University, Türkiye
FLEXIBLE PACKAGING IN THE CIRCULAR ECONOMY	Assoc. Prof. Özlem ESMER Betül ER	Ege University, Türkiye
EFFECTS OF FLUCONAZOLE ON SURVIVAL, DEVELOPMENT AND SOME ADULT TRAITS OF <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> (MEIGEN)	Lect. Dr.Gökçe ÜSTÜNDAĞ Prof. Dr. Kemal BÜYÜKGÜZEL Prof. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL	Zonguldak Bülent Ecevit University, Türkiye
DESIGN AND OPTIMIZATION OF RAPID MASSAGE ON A PNEUMATIC PULSATOR IN MILKING MACHINES	Halil ÜNAL Zahra AMİN	Bursa Uludağ University, Türkiye
THE INVESTIGATION OF SACRIFICED MEAT DURING EID AL-ADHA FESTIVAL IN TERMS OF FOOD SAFETY	Assist. Prof. Muhsin ÖZTÜRK Ress. Assist. Betül YILDIRIM Assist. Prof. Dr., Elif GÜNALAN	İstanbul Sağlık ve Teknoloji University, Türkiye
THE INVESTIGATION OF FOOD LABELS OF BABY BISCUITS WHICH SALE ON ONLINE SHOPPING WEBSITES IN THE TÜRKİYE, USA and GERMANY	Kader ÇELİK Bengi Su TUNCER Assist. Prof. Elif GÜNALAN	İstanbul Sağlık ve Teknoloji University, Türkiye
PRODUCTION OF FUNCTIONAL BONE BROTH ENRICHED WITH THE ADDITION OF GRAPE SEEDS	Ress. Assist. Ertürk BEKAR Dr. Öğr. Büşra ACOĞLU ÇELİK Arş. Gör.Taha Turgut ÜNAL Fatma ERSOY Fatih Furkan KARAKOL Sedef Irmak BESİMOĞLU Yonca UZUN	Bursa Uludağ University, Türkiye

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.****Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.****Kindly keep your cameras on till the end of the session.**



**Session-2, Hall-4****17.03.2023****Moderator: Ahmad ALSALEH****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 16:30 – 18:30**

Title	Author(s)	Affiliation
ADVANCES IN MILK BASED SEROLOGICAL TECHNIQUES FOR THE SCREENING OF BOVINE BRUCELLOSIS	Muhammad Shahbaz SHARIF Evrin GENÇ Özlem BÜYÜKTANIR YAŞ Oktay GENÇ	Ondokuz Mayıs University, Türkiye
MODELLING OF SENSORY AND TEXTURAL PROPERTIES OF FRESH TYPE KASHAR CHEESES	Dr. Pınar KIZILKAYA Dr. İzzet ÖZHAMAMCI Dr. Bilge Sayın BÖREKÇİ Dr. Mehmet BAYĞIN Dr. Akif Göktuğ BOZKURT	Ardahan University, Türkiye
INVESTIGATION OF MINERALS IN FRUIT PEELS POWDER: ULTRASOUND ASSISTED EXTRACTION FOLLOWED BY FLAME ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY	Dr. Mahmood Ahmed	University of Education, Lahore-Pakistan
POTENTIAL OF FOOD-BASED CURCUMIN AS CAPPING AGENTS AND ANTIOXIDANTS IN COLON CANCER TREATMENT	Nurhidayatullaili Muhd Julkapli, Lina Adnan Al-Ani	Universiti Malaya, Malaysia
ABOUT OPTIMUM AND INADMISSIBLE SOIL BULK DENSITY PLOUGHED UP	Oksana Bihun	NSC "ISSAR named after O.N. Sokolovsky", Kharkiv, Ukraine
DOSE AND DOSE EFFECT OF SOME DRUGS IN CERTAIN STAGES OF EMBRYONIC DEVELOPMENT OF THE CHICKEN EGG	Beadini A, Hasani L, Elezi A	University of Tetovo, Republic of North Macedonia
OFF-SEASON PRODUCTIVITY FROM BLACKBERRY CULTIVARS IN REGIONS WITH LITTLE CHILLING: promising management for application in Mozambique and African regions	Gabriel Laquete de Barros, Alexandre Dias da Silva, Alisson Rocha de Aragão, Rafael Pio	Universidade Federal Rural do Semi-Árido -Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil
RISK ASSESSMENT OF MERCURY CONTENT IN DURUM WHEAT FROM TURKIYE	Ahmad ALSALEH	Yozgat Bozok University, Türkiye
RELATIONSHIP BETWEEN THE YELLOW INDEX AND THE B-CAROTENE CONTENT IN JERSEY COW CREAM	Mahsa Dehnavi, Javier Mateo, Ana B. Rodríguez, Irma Caro, F. Javier Giráldez	University of León, Spain. INATEGA group Ctra. Spain. University of Valladolid, Spain CSIC-Universidad de León, Spain

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.****Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.****Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-2, Hall-5****17.03.2023****Moderator: Anna Kopiczko****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 16:30 – 18:30**

Title	Author(s)	Affiliation
MYCOFLORA CONTAMINATION OF DRIED SMOKED FISH FROM MARKETS IN KADUNA, KADUNA STATE, NIGERIA	Shitu, S., Imam, Z. I., Abdullahi, M. G.	Kaduna Polytechnic, Kaduna State, Nigeria
BIOECONOMY: A MECHANISM FOR SOLVING THE FOOD CRISIS	Olena Budiakova	Kyiv National University of Technologies and Design, Kyiv, Ukraine
FOOD PRACTICE AND BMI AMONG COLLEGE GIRLS: AN ASSOCIATION	Shylaja Jeyapaul Dr. Raji Kaliaperumal	King Khalid University, Saudi Arabia
SOCIAL, BEHAVIOURAL AND OTHER DETERMINANTS OF FOOD CHOICE AMONG EUROPEAN ORIGIN YOUNG WOMEN: THE RESULTS OF CROSS-SECTIONAL OBSERVATIONAL STUDY	Anna Kopiczko Monika Lopuszanska-Dawid Patrycja Widlak Małgorzata Jusiakowska - Piputa	Józef Piłsudski University of Physical Education in Warsaw, Faculty of Physical Education, Department of Human Biology, Warsaw, Poland Witelon Collegium State University, Faculty of Health and Physical Culture Sciences, Department of Public Health, Legnica, Poland
IMPORTANCE OF CULINARY CULTURE IN VIETNAMESE BELIEFS CASE STUDY: SOUTHWEST VIETNAM	Bui Man Nghi Nguyen Thi Hoai Ngoc Dao Thanh Tam	University of Architecture Ho Chi Minh City, Viet Nam
3D FOOD PRINTING TECHNOLOGY	Dr. Rabia Shabir Ahmad	Department of food Science, GCUF
REGIONAL SUPERFOODS AS POTENTIAL OF REGIONAL INDUSTRY OF HOSPITALITY	Olena A. Lykholat Tetyana Y. Lykholat Maksim O. Kvitko Yuriy V. Lykholat	<i>University of Customs and Finance, Dnipro, Ukraine</i>
BULGUR: NUTRITIONAL AND THERAPEUTIC PERSPECTIVES	Amara Rasheed, Farhan Saeed, Muhammad Afzaal, Bushra Niaz, Muzzamal Hussain, Muhammad Ahtisham Raza, Huda Ateeq	Department of Food Science, Faculty of Life Sciences, Government College University Faisalabad, Faisalabad, Pakistan

All participants must join the conference 10 minutes before the session time.

Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.

Kindly keep your cameras on till the end of the session.

**Session-2, Hall-6****17.03.2023****Moderator: Dr. Faisal Zulhumadi****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 16:30 – 18:30**

Title	Author(s)	Affiliation
ANTI-ULCER EFFECT OF ALGERIAN FICUS CARICA L. FRUITS EXTRACT AGAINST HCL-ETHANOL INDUCED GASTRIC MUCOSAL INJURY IN MICE “VALORIZATION OF A LOCAL VARIETY”	Leila KEBAL Noureddine DJEBLI	University Abd El Hamid Ibn Badis Mostaganem, Faculty of natural and life sciences, Department of Biology, Mostaganem, Algeria
ANTIOXIDANTS: A NEW QUALITY PARAMETER FOR PROCESSED FOODS	Muhammad Kamran Khan Muhammad Faizan Afzal	Department of Food Science, Government College University Faisalabad, Pakistan
THE LEGAL REGULATION FOR LABORATORY ANALYZES OF FOOD DURING THE IMPORT OF REPUBLIC OF NORTH MACEDONIA AND THEIR ECONOMIC JUSTIFICATION	Vasilka Poposka Trenevaska Blagica Sekovska Elena Davitkovska	Skopje at Ss. Cyril and Methodius University in Skopje, Republic of North Macedonia
JOKER#2 OR DERIVATION OF LACKING DATA IN BIOLOGICAL SYSTEMS	László Pitlik, Dániel Váradi	Kodolányi János University and MY-X research team Hungary
DRONE APPLICATION IN PADDY FARMING: MALAYSIA AND INDONESIA COMPARISON	Faisal Zulhumadi Wan Nadzri Osman Mohamed Najib Salleh Herman Shah Anuar	Universiti Utara Malaysia, School of Technology Management and Logistics, Technology Management Department, Sintok, Malaysia
EATING PATTERNS AND HEALTH BENEFIT SCORE ZONE OF UNIVERSITY STUDENTS IN SAUDI ARABIA	Shylaja Jeyapaul Dr. Raji Kaliaperumal	King Khalid University, Saudi Arabia
PASTORALISTS SOURCES OF INFORMATION ON MANAGEMENT PRACTICES OF CATTLE DISEASES AND PARASITES IN NORTH EAST, NIGERIA	Bashir M.B., Ndaghu A.A., Anonguku I., Wambai A.A, Nuhu F.	Ahmadu Bello University, Zaria, Kaduna State, Nigeria Modibbo Adama University Yola, Adamawa State Sarwuan Tarka University, Makurdi, Benue State Wurkum Chieftdom Karim Lamido, Taraba State

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.**

**Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.**

**Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-1, Hall-1****18.03.2023****Moderator: Prof. Dr. Salih OTLU****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 10:00 – 12:00**

Title	Author(s)	Affiliation
THE USE OF ELECTRONIC NOSE IN FOODS	Candan CANÖZER Assoc. Prof. Şenol KÖSE	Van Yüzüncü Yıl University, Türkiye
POTENTIAL USE OF BLACK CHICKPEA AS AN ENRICHMENT MATERIAL IN CEREAL PRODUCTS	Assist. Prof. Ezgi ÖZGÖREN	Pamukkale University, Türkiye
DETERMINATION OF THE EFFECTS OF DIFFERENT PACKAGING TECHNOLOGIES ON THE NUTRITIONAL VALUES OF FRESH-CUT SPINACH	Assoc. Prof. Özlem KIZILIRMAK ESMER Inna CHISACOVA Aysima YEDİLER	Ege University, Türkiye
SOME QUALITY PARAMETERS OF KARS GRUYERE CHEESE	Assist. Prof. Tuğba KILIÇ Assist. Prof. Gülcan KOYUNCU	Kilis 7 Aralık University, Türkiye
ISOLATION OF A NOVEL LYTIC BACTERIOPHAGE INFECTING <i>SHIGELLA SONNEI</i> CAUSING EPIDEMICS	Assist. Prof. Medine ÇOTAK Assist. Prof. Ayşe KARACALI TUNÇ Büşra Merve SARITAŞ	Iğdır University, Türkiye
OBTAINING BARLEY OIL FROM MALT WASTE	Müge GÜZEY	Bursa Teknik University, Türkiye
OXIDATIVE INFLUENCE OF DIETARY OXYCLOZANIDE ON MIDGUT AND FAT BODY TISSUE OF <i>GALLERIA MELLONELLA</i>	Lect. Cihat ÇELİK Prof. Dr. David W. Stanley Prof. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL	Zonguldak Bülent Ecevit University, Türkiye Biological Control of Insects Research Laboratory, USDA/Agricultural Research Service, Columbia, MO, USA
DETECTION OF THE SUSCEPTIBILITY OF PROBIOTIC BACTERIA TO ANTIBIOTICS BY E-TEST METHOD	Emine Mine ÇOMAK GÖÇER Firuze ERGİN ZEREN	Akdeniz University, Türkiye
NEUROENDOCRINE CONTROL OF FOOD INTAKE AND REGULATION	Dr. Saltuk Buğra BALTACI Dr. Aylin ÜSTÜN	İstanbul Medipol University, Türkiye

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.**

**Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.**

**Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-1, Hall-2****18.03.2023****Moderator: Prof. Dr. Tarkan ŞAHİN****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 10:00 – 12:00**

Title	Author(s)	Affiliation
MORKARAMAN CİNSİ TOKLULARDA GLUTEN İLE BESLEMENİN KESİM VE KARKAS ÖZELLİKLERİ	Dr. Mazhar Burak CAN Prof. Dr. Halit İMİK	Ataturk University, Türkiye
DETERMINATION OF SILAGE QUALITY IN MIXTURES OF TRITICALE AND COMMON VETCH AT DIFFERENT INCLUSION RATES	Prof. Dr. Tarkan ŞAHİN Res. Assist. Tuğçe Merve BERBEROĞLU Benian YILMAZ Ebrar FİLİZOĞLU Assist. Prof. Mükremin ÖLMEZ	Kafkas University, Türkiye
SILENT DANGER MYCOTOXINS AND THEIR BIOLOGICAL DETOXIFICATION	Ögr. Gör. Taner LEVENDOĞLU Prof. Dr. Taylan AKSU	Van Yüzüncü Yıl University, Türkiye
EFFECT OF STARTER CULTURE INOCULATION ON COLOR STABILITY OF DRY FERMENTED SAUSAGES DURING RIPENING PERIOD	Dr. Gülay Merve BAYRAKAL Assist. Prof. Funda YILMAZ EKER Dr. Esra AKKAYA	İstanbul University, Türkiye
DETERMINATION OF THE IN VITRO DIGESTIBILITY OF SOME LOW QUALITY ROUGHAGE SOURCES	Samet KUZGUN Assoc. Prof. Mustafa SALMAN	Ondokuz Mayıs University, Türkiye
SUSCEPTIBILITY PROFILES OF <i>B. CEREUS</i> STRAINS TOWARDS CERTAIN ANTIBIOTICS ISOLATED FROM PLANT-DERIVED FOODS	Assist. Prof. Semiha YALÇIN Assist. Prof. Başak Gökçe ÇÖL Prof. Dr. Harun AKSU	Muğla Sıtkı Koçan University, Türkiye İstanbul Gelişim University, Türkiye İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, University, Türkiye.

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.  
Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.  
Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-1, Hall-3****18.03.2023****Moderator: Assoc. Prof. Kanber KARA****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 10:00 – 12:00**

Title	Author(s)	Affiliation
NUTRIENT COMPOSITION AND IN VITRO RUMINAL FERMENTATION OF CROWN VETCH FORAGE	Assoc. Prof. Kanber KARA	Erciyes University, Türkiye
CONCENTRATION AND PREVALENCE OF MYCOTOXIN IN EXTRUDED DRIED TYPE DOG FOODS	Assoc. Prof. Kanber KARA	Erciyes University, Türkiye
THE EFFECT OF VITAMIN-MINERAL COMBINATION TREATMENT ON SOME FERTILITY PARAMETERS IN AKKARAMAN EWES DURING THE BREEDING SEASON	Assist. Prof. Mükremin ÖLMEZ Prof. Dr. Tarkan ŞAHİN Prof. Dr. Mehmet Akif YÖRÜK Assist. Prof. Buket BOĞA KURU Assoc. Prof. Özlem KARADAĞOĞLU Assoc. Prof. Mushap KURU Hatice Gizem BÜYÜKBAKİ	Kafkas University, Türkiye
POTENTIAL USE OF METHYL SULFONYL METHANE IN ANIMAL NUTRITION	Ress. Assist. Dr. Emre YILMAZ, Ress. Assist. Dr. Soner UYSAL Dr. Ayşe UYSAL Ress. Assist. Şermin TOP	Atatürk University, Türkiye
IgY AND ITS IMPORTANT OF ANIMAL HEALTH	Assist. Prof. Mükremin ÖLMEZ Sakine DALĞA Prof. Dr. Tarkan ŞAHİN Prof. Dr. Mitat ŞAHİN	Kafkas University, Türkiye Tarsim Van Bölge Müdürlüğü, Van, Türkiye Kırgızistan-Türkiye Manas University, Kırgızistan
EFFECTS OF DIFFERENT POWDER OREGANO ( <i>Origanum vulgare L.</i> ) LEVELS ON GROWTH PERFORMANCE OF BROILERS	Assoc. Prof. Özlem KARADAĞOĞLU Lect. Roshan Riaz Hatice Gizem BÜYÜKBAKİ Prof.Dr.Tarkan ŞAHİN	Kafkas University, Türkiye
DETERMINATION OF RELATIVE FEED VALUE AND İN VITRO TRUE DIGESTIBILITY OF HUNGARIAN VETCH-OAT MIXTURE	Zeki KILIN Prof. Dr. Zehra SELCUK	Ondokuz Mayıs University, Türkiye.

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.****Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.****Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-1, Hall-4****18.03.2023****Moderator: Assoc. Prof. Tauseef ur Rehman****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 10:00 – 12:00**

Title	Author(s)	Affiliation
PHYTOCHEMICAL ANALYSIS AND IN VITRO ANTHELMINTIC ACTIVITY OF METHANOLIC AND ETHYL ACETATE EXTRACTS OF AZADIRACHTA INDICA (NEEM)	Tauseef ur Rehman	Department of Parasitology, Faculty of Veterinary and Animal Sciences, The Islamia University of Bahawalpur
CORRELATION BETWEEN CYSTIC OVARIAN DISEASE AND HORMONAL IMBALANCES	Kave Koorehpaz	Urmia university, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Theriogenology and Obstetrics, Urmia, Iran.
TREATMENT PROTOCOLS OF BENING PROSTATIC HYPERPLASIA IN MALE DOGS	Kave Koorehpaz	Urmia university, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Theriogenology and Obstetrics, Urmia, Iran.
IMPORTANCE OF PHYSIOTHERAPY IN VETERINARY SCIENCES: A MINIREVIEW	Humera Tahir Syed Muhammad Shah Ibrar Ahmed	Shahida Islam College of Rehabilitation Sciences, Department of Physiotherapy, Lodhran, Pakistan. University Institute of Physiotherapy, The University of Lahore, Pakistan Department of Animal Nutrition and Nutritional Diseases, Faculty of Veterinary Sciences, Selcuk University, Konya, Türkiye
USE OF MUSTARD OIL CAKE AS ALTERNATIVE PROTEIN SOURCE TO FISH MEAL IN PRACTICAL DIETS FOR FINGERLING <i>HETEROPNEUSTES FOSSILIS</i> (BLOCH)	Noorin Zafar	Department of Zoology, Aligarh Muslim University, Aligarh, India.
PLATELETE FEATURES IN YAROSLAV CALVES	Nadezhda Viktorovna Vorobyeva	South-West state University, Kursk, Russia All-Russian Research Institute of Physiology, Borovsk, Russia
FUNCTIONAL ACTIVITY OF PLATELETS IN PIGS IN THE MIDDLE OF EARLY ONTOGENESIS	Elena Sergeevna Tkacheva	Vologda State Dairy Farming Academy named after N.V. Vereshchagin, Vologda, Russia
PLATELET ACTIVITY FOR HEIFERS AGED OVER ONE YEAR	Maya Dmitrievna Shumova, Valentin Alekseevich Bilkov	Vologda State Dairy Farming Academy named after N.V. Vereshchagin, Vologda, Russia
GENERAL BLOOD PARAMETERS IN REPEATED COWS	Ilnura Ibragimovna Fayzullina, Alexander Grigorievich Kudrin	Vologda State Dairy Farming Academy named after N.V. Vereshchagin, Vologda, Russia

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.****Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.****Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-1, Hall-5****18.03.2023****Moderator: Dr. Ali Haider****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 10:00 – 12:00**

Title	Author(s)	Affiliation
THE EXAMINATION OF THE TOTAL PROTEIN AND FIBER CONTENT OF DIFFERENT MUSHROOM POWDERS	Gréta Törös Dr. Ferenc Peles Péter Hajdú Dr. József Prokisch	University of Debrecen, Hungary
INVESTIGATION OF MINOCYCLINE EFFECT ON EXPRESSION CHANGES OF BCL-2 PROTOONCOGENE ON MCF7 BREAST CANCER CELLS	Abedeh Rezaei Mohammad Khalaj-Kondori	University of Tabriz, Tabriz, Iran
DEVELOPMENT OF A NEW VACCINE ADJUVANT BASED IN ZNO AND COTTONSEED OIL NANOEMULSION	Gustavo Sobrevilla- Hernández Diana G. Zarate-Triviño Sara P. Hernández-Martínez Paola L. García-Coronado Moisés A. Franco-Molina	Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México.
GENETIC APPROACHES TO AMELIORATE HEAT STRESS CHALLENGES IN LIVESTOCK	J.M.Kamali G. Kalaignazhal M. V. Silpa V. Sejian	Rajiv Gandhi Institute of Veterinary Education and Research
TRANSPORTATION STRESS IN FARM ANIMALS: IMPACT ASSESSMENT AND STRATEGIES TO AMELIORATE	E. Binuni Rebez V. Sejian	Rajiv Gandhi Institute of Veterinary Education and Research
IN-VITRO CATALYTIC AND ANTIBACTERIAL POTENTIAL OF GREEN SYNTHESIZED CUO NANOPARTICLES AGAINST PREVALENT MULTIPLE DRUG RESISTANT BOVINE MASTITIS STAPHYLOCOCCUS AUREUS	Anwar Ul-Hamid Hatim Dafalla Abbas Saeed Hakeem Ali Haider Muhammad Ikram	Faculty of Veterinary and Animal Sciences, Muhammad Nawaz Shareef University of Agriculture (MNSUA), Multan 66000, Pakistan
HEALING EFFECTS OF A TEUCRIUM POLIUM CREAM ON EXPERIMENTAL WOUNDS IN THE RABBIT	Belfarhi Leila	University of Annaba
CHEMICAL, PHYSICAL, ELECTRICAL, OPTICAL AND MAGNETIC PROPERTIES OF CANCER CELLS AND MODULATION IN THESE PROPERTIES FOR CANCER THERAPY	Rishav Sharma, Rishabha Malviya	Galgotias University, Greater Noida, Uttar Pradesh India
MEASURING FARM ANIMAL EMOTIONS—SENSOR-BASED APPROACHES	Harshita Singh	Banasthali Vidhyapith university, Rajasthan, India

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.**

**Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.**

**Kindly keep your cameras on till the end of the session.**



**Session-1, Hall-6****18.03.2023****Moderator: Major Gheorghe Giurgiu****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 10:00 – 12:00**

Title	Author(s)	Affiliation
EFFECTS OF SACCHAROMYCES CEREVISIAE LIVE CELLS AND CULTURE ON GROWTH AND PRODUCTIVE PERFORMANCE IN LACTATING NILI RAVI BUFFALOES	Saeed Ahmed, Mohsin Ali, Mubashar Ali, Nisar Ahmad, Burhan Azam, Farooque Latif	University of Veterinary and Animal Sciences, Lahore. Buffalo Research Institute, Bhuneki, Pattoki. SRC, Lahore.
SUPPLEMENTATION OF MANGO ( <i>Mangifera indica</i> ) AS A NUTRACEUTICAL PRODUCT IN THE DIET OF POULTRY	Muhammad Waqas Mustafa Salman	Ondokuz Mayıs University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Animal Nutrition and Nutritional Diseases, Samsun, Turkiye
ANTICIPATING CUSTOMER NEEDS AND INCREASING SATISFACTION WITH ZOOS	Roland Schmuck	University of Pécs Faculty of Business and Economics, Department of Leadership and Organizational Sciences, Pécs, Hungary
ENVIRONMENTAL ENRICHMENT IN CAPTIVE BEAR ENCLOSURES	CARMEL PRINS ARUNIMA K.M. D. SREEKUMAR V. SEJIAN	Veterinary Intern, Rajiv Gandhi Institute Of Veterinary Education and Research, Puducherry India
CLIMATE RESILIENT GOAT PRODUCTION IN THE TROPICAL REGIONS	Devamalini B S Edwiga J N Silpa M V Nameer P O Sejian V	College of Climate Change and Environmental Science, Student, Kerala Agricultural University, Kerala, India Rajiv Gandhi Institute Of Veterinary Education And Research, Dean,
IMPACT OF HEAT STRESS ON THE GROWTH PERFORMANCE IN GOATS	GAYATHRI B S ANUPAMA R SILPA M V NAMEER P O SEJIAN V	Kerala Agricultural University, College of Climate Change and Environmental Science, Student, Thrissur, India
MOLECULAR SURVEY OF THE PARASITIC NEMATODE <i>CONTRACAECUM</i> SPP. IN FISH ( <i>PLANILIZA ABU</i> ) DESTINED FOR HUMAN CONSUMPTION	Hebba mahmowd Muayad A. Hussein Marwa Jawad Firas Alali	Ministry of Education, Mosul, Iraq. Department of biomedical engineering, University of Technology, Baghdad, Iraq. Department of Biology, College of Sciences, University of Kerbala, Kerbala, Iraq. Department of Veterinary microbiology and Parasitology, College of Veterinary Medicine, University of Kerbala, Kerbala, Iraq.
SUBCHRONIC AND CHRONIC EXPOSURE TO HEXACONAZOLE INDUCED OXIDATIVE STRESS AND HISTOPATHOLOGICAL CHANGES IN THE LIVER OF ALBINO RATS	Mariam Jalal Latifa Ez-Zaher	University Ibn Zohr, Faculty of Science, Laboratory of Cell Biology and Molecular Genetics, Agadir, Morocco
EFFECT OF DIETARY SUPPLEMENTATION OF FENUGREEK SEEDS ON NUTRIENT DIGESTIBILITY, SOME RUMEN AND BLOOD PARAMETERS OF LAMBS	Hoger HIDAYET Kamal MUSTAFA	College of Veterinary Medicine, University of Duhok, Duhok, Iraq.

NATURAL MODULATION OF THE  
GUT MICROBIOTA IN DOGS WITH  
SPINAL CORD INJURY

Major Gheorghe Giurgiu, Prof.  
dr. Manole Cojocaru

Deniplant-Aide Sante Medical  
Center, Biomedicine, Bucharest,  
Romania  
Titu Maiorescu University, Faculty  
of Medicine, Bucharest, Romania

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.  
Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.  
Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-2, Hall-1****18.03.2023****Moderator: Assoc. Prof. Mushap KURU****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 12:30 – 14:30**

Title	Author(s)	Affiliation
THE USE OF MELATONIN FOR BREEDING CONTROL IN QUEENS	Fatih BÜYÜKBUDAK Murat FINDIK	Ondokuz Mayıs University, Türkiye
OESTRUS MANAGEMENT IN BUFFALOES	Fatih BÜYÜKBUDAK Murat FINDIK	Ondokuz Mayıs University, Türkiye
THE EFFECT OF ESTRUS SYNCHRONIZATION ON PREGNANCY RATE IN ABAZA GOATS DURING THE BREEDING SEASON	Assoc. Prof. Mushap KURU Assist. Prof. Buket BOĞA KURU	Kafkas University, Türkiye
INFECTION-RELATED ABORTIONS IN DAIRY COWS	Gülşah SARAL Fırdev BİNLİ	Ondokuz Mayıs University, Türkiye
DEFENSE MECHANISM OF THE BREAST GLAND AND REDUCING THE RISK OF MASTITIS IN RUMINANTS	Selinay ALKAYA Nevzat SAAT	Balıkesir University, Türkiye
COMPARISON OF BLOOD SERUM AND URINARY AMH CONCENTRATIONS IN CATS	Assoc. Prof. Semra KAYA Assoc. Prof. Serap KORAL TAŞCI Assist. Prof. Murat Can DEMİR Res. Assist. Dr. Muhammet Ali KARADAĞ Res. Assist. Merve Sena KUMCU Prof. Dr. Cihan KAÇAR Res. Assist. Dilem Gülece ERMUTLU Assoc. Prof. Mushap KURU	Kafkas University, Türkiye

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.****Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.****Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-2, Hall-2****18.03.2023****Moderator: Assoc. Prof. Semra KAYA****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 12:30 – 14:30**

Title	Author(s)	Affiliation
A NEW GENERATION ALTERNATIVE FOR CONTROL OF REPRODUCTION IN DOGS - GnRH AGONIST IMPLANTS	Muhammet Ali KARADAĞ Duygu KAYA	Kafkas University, Türkiye
B-MOD AND DOPPLER ULTRASONOGRAPHY IN A COW WITH UTERINE TORSION	Assist. Prof. Murat Can DEMİR Prof. Dr. Cihan KAÇAR	Kafkas University, Türkiye
PESTIVIRUS INFECTION IN PREGNANT SHEEP AND THEIR FOETUSES: AN OVERVIEW OF PAST DATA AND COMPARISON WITH CURRENT LITERATURE	Dr. Can ÇOKÇALIŞKAN	T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Şap Enstitüsü Ankara, Türkiye
CLINICAL APPROACH TO BREAST HYPERPLASIA IN CATS	İpek İNAN Murat FINDIK	Ondokuz Mayıs University, Türkiye
CARE AND FEEDING IN CAT AND DOG NEONATES	İpek İNAN Murat FINDIK	Ondokuz Mayıs University, Türkiye
A CASE OF UTERINE PROLAPSE IN A KANGAL BITCH	Assist. Prof. Murat Can DEMİR Res. Assist. Dr. Muhammet Ali KARADAĞ Res. Assist. Merve Sena KUMCU Assoc. Prof. Mushap KURU Assoc. Prof. Semra KAYA Prof. Dr. Cihan KAÇAR	Kafkas University, Türkiye

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.****Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.****Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-2, Hall-3****18.03.2023****Moderator: Assoc. Prof. Enes AKYÜZ****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 12:30 – 14:30**

Title	Author(s)	Affiliation
DETECTION OF SHEEPOX VIRUS IN TICKS SAMPLED FROM IZMIR REGION	Mehmet Berat NAYİR Tunahan ÇOMAK Ender DİNÇER Mehmet Özkan TİMURKAN	Dokuz Eylül University, Türkiye
INVESTIGATION OF CRIMEAN-CONGO HEMORRHAGIC FEVER VIRUS (CCHFV) SEROPREVALENCE IN SHEEP	Mustafa ÜĞDÜL Hasbi Sait SALTİK	Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Türkiye
VACCINATION STRATEGY FOR PROTECTING NEWBORN CALVES FROM BOVINE ROTAVIRUS AND BOVINE CORONAVIRUS INFECTIONS	Vet. Hek. İbrahim Oktay KURT Prof. Dr. Yakup YILDIRIM	Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Türkiye
MACROSCOPIC AND MICROSCOPIC INVESTIGATION OF CANALIS ALIMENTARIUS IN HAMADRYAS BABOON ( <i>PAPIO HAMADRYAS</i> )	Assist. Prof. Fatma İŞBİLİR	Siirt University, Türkiye
SEROPREVALENCE OF EPIZOOTIC HEMORRHAGIC DISEASE VIRUS (EHDV) IN DOMESTIC RUMINANTS IN BLACK SEA REGION OF TÜRKİYE	Hanne Nur KURUÇAY Cüneyt TAMER	Ondokuz Mayıs University, Türkiye
RISK ASSESSTMENT ABOUT EFFECTIVENESS OF BIOSECURITY PRACTICES ON HORSE PROPERTIES IN TÜRKİYE	Assist. Prof. Ömer Barış İNCE Assist. Prof. Yavuzkan PAKSOY Dr. Ahmet SAİT	Necmettin Erbakan University, Türkiye Pendik Veterinary Control Institute Directorate Viral Diagnostic Laboratory, Türkiye
CANINE PAPILLOMAVIRUS (CPV) INFECTION DIAGNOSIS AND TREATMENT; PHYLOGENY AND EPIDEMIOLOGY WITH MUCOSAL AUTO-THERAPY REMISSION, TARANTULA CUBENSIS VENOM, LEVAMISOLE+AZITHROMYCINE MEDICATION AND SELF-HEALING, 57 CASES	Assist. Prof. Bilge Kaan Tekelioğlu Assoc. Prof. Çağla Parkan Yaramış Prof. Dr. Nuri TURAN Çağrı AVCİ Vet.Hek. Kasım BERBER5 Prof. Dr. Aydın GÜREL Damla HAKTANIR Assoc. Prof. Kıvılcım SÖNMEZ Assist. Prof. Özge Erdoğan BAMAÇ Prof.Dr. Aysun YILMAZ Marie Noelle-Issautier Prof. Dr. Hüseyin YILMAZ	Çukurova University, Türkiye İstanbul Rizem Veteriner Kliniği, Rize, Türkiye İstanbul Cerrahpaşa University, Türkiye Vet.Hek. 69003, Lyon, Fransa.
SCHMALLEMBERG VIRUS INFECTION	Yağmur ÇETİNKAYA	Ondokuz Mayıs University, Türkiye
INVESTIGATION OF LENTIVIRUS INFECTION IN SHEEP IN DENİZLİ PROVINCE	Assist. Prof. Ömer Barış İNCE Dr. Ahmet SAİT	Necmettin Erbakan University, Türkiye Pendik Veterinary Control Institute Directorate, Türkiye

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.****Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.****Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-2, Hall-4****18.03.2023****Moderator: Ivan Pavlovic****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 12:30 – 14:30**

Title	Author(s)	Affiliation
EFFECTS OF CITRUS MAXIMA JUICE ON MATERNAL HIGH FAT-DIET INDUCED CHANGES ON FOETAL MORPHOLOGY, HAEMATOLOGY AND SERUM BIOCHEMISTRY PROFILES IN FEMALE ALBINO RATS	Rita I. Odo, Hillary E. Ugwuanyi, Ifunanya G. Nze	University of Nigeria, Nsukka
SEVERE MORTALITY IN CULTURED BALZANII CICHLID (GYMNOGEOPHAGUS BALZANII) DUE TO NEMATODE INFECTION	Hooman Rahmati-Holasoo	University of Tehran, Tehran, Iran
IMPROVING ANIMAL HEALTH THROUGH FEED HYGIENE	Promise Goodness Adeleye	University of Ilorin, Nigeria
EXPLORING THE ROLE OF EXTENSION SERVICES ON THE IMPROVEMENT OF FOOD SECURITY IN RURAL AREAS	Promise Goodness Adeleye	University of Ilorin, Nigeria
HYDROLOGY AND NUTRIENT ENRICHMENT IN PISCICULTURE - A REVIEW	Vidya Padmakumar Murugan Shanthakumar	Department of Zoology, Bangalore University, Bangalore, India
INVESTIGATION ON PARASITIC INFECTIONS IN THE ORNAMENTAL FISH FARM IN BOJNURD, IRAN	Hooman Rahmati-Holasoo, Hosseinali Ebrahimzadeh Mousavi	University of Tehran, Tehran Iran.
COCCIDIOSIS OF PET DOGS IN BELGRADE AREA DURING 2021	Ivan Pavlovic	Scientific Institute of Veterinary Medicine of Serbia, Belgrade, Serbia
BIOLOGICAL AND ANTI NEWCASTLE DISEASE VIRAL SCREENINGS OF L. SERRIOLA EXTRACTS IN POULTRY	Rahat Andleeb & Asma Ashraf	Department of Zoology, Government College University Faisalabad, Pakistan.
MOLECULAR INVESTIGATION OF ENTEROTOXINS IN METHICILLIN RESISTANT <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> ISOLATED FROM BOVINE MILK AND OCCUPATIONAL DAIRY WORKERS IN PAKISTAN	Muhammad Ijaz Arslan Ahmed Muhammad Umar Javed Nauman Zaheer Ghumman Hamza Rasheed Farwa Anwaar Syed Faizan Ali Shah	Department of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Science, University of Veterinary and Animal Sciences, Lahore- Pakistan

All participants must join the conference 10 minutes before the session time.

Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.

Kindly keep your cameras on till the end of the session.

**Session-2, Hall-5****18.03.2023****Moderator: Dr. Irshad Ahmad****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 12:30 – 14:30**

Title	Author(s)	Affiliation
IMPROVEMENT OF MEDICAL WASTE STORAGE PROCEDURES	Sofija Sančanin, Aleksandra Sančanin, Branislav Sančanin	Hamad General Hospital - Doha, Qatar Union - Nikola Tesla University - Belgrade, Serbia
USING THE GIBSON ASSEMBLY METHOD TO INSERT GRNA AND ASSEMBLE THE PLASMID	Yousef Vatanparast Gholam Hossein Ebrahimipour	Department of Microbiology and Microbial Biotechnology, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran
IN VITRO EFFECTS OF PHYSIOLOGICAL AND MECHANICAL STIMULATION OF D-HUSK-BASED CARDIAC BIOCONSTRUCTS	Anna Maria Sacco <sup>1</sup> , Veronica Romano <sup>1</sup> , Immacolata Belviso <sup>1</sup> , Giulia Ricci <sup>2</sup> , Marcella Cammarota, Daria Nurzynska, Diana Massai, Giovanni Putame, Cristiano Amarelli, Ciro Maiello, Fabrizio Schonauer, Stefania Montagnani, Franca Di Meglio, Clotilde Castaldo	University of Naples Federico II, Naples, Italy Università della Campania Luigi Vanvitelli, Naples, Italy Politecnico di Torino, Turin, Italy Monaldi Hospital, Naples, Italy
RAPID AND EFFECTIVE METHOD TO DECELLULARIZE BIOLOGICAL TISSUES USING A HAND-MADE SAMPLE-HOLDER	Veronica Romano, Immacolata Belviso, Anna Maria Sacco, Clotilde Castaldo, Franca Di Meglio, Daria Nurzynska, Fabrizio Schonauer, Stefania Montagnani	Department of Public Health, University of Naples "Federico II", Italy
IN VITRO REMODELING OF HUMAN DECELLULARIZED DERMAL MATRIX BY CARDIAC PROGENITOR CELLS	Immacolata Belviso, Anna Maria Sacco, Veronica Romano, Giulia Ricci, Marcella Cammarota, Daniele Bravoco, Fabrizio Schonauer, Cristiano Amarelli, Clotilde Castaldo, Franca Di Meglio	University of Naples Federico II, Naples, Italy Università della Campania Luigi Vanvitelli, Naples, Italy Monaldi Hospital, Naples, Italy
THE RELATIONSHIP BETWEEN THE ACTION OF ERADICATE MOSQUITO NEST (PSN) WITH THE PRESENCE OF AEDES AEGYPTI LARVAE IN BAKUNG VILLAGE BIRINGKANAYA DISTRICT MAKASSAR CITY	Dr. Erniwati Ibrahim , SKM, M.Kes	Hasanuddin University, Indonesia
EFFECT OF EXTRA-CAPORAL SHOCK WAVE THERAPY IN MYOFASCIAL TRIGGER POINTS (MFTP) USING DOPPLER ULTRASONOGRAPHY	Dr. Irshad Ahmad	King Khalid University, Abha, Saudi Arabia
THE RELATIONSHIP OF THE ROLE OF JUMANTIK CADRE TO THE FREE LARVA RATE (ABJ) THROUGH THE 1 HOUSE 1 JUMANTIK MOVEMENT DURING THE COVID-19 PANDEMIC IN THE WORK AREA OF THE BALLAPARANG HEALTH CENTER	Dr. Erniwati Ibrahim, SKM, M.Kes, Sherli Wahyuni, SKM, M. Kes	Hasanuddin University, Indonesia

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.****Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.****Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-2, Hall-6****18.03.2023****Moderator: Dr. Muhammad Haseeb Ahmad****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 12:30 – 14:30**

Title	Author(s)	Affiliation
BIOMEDICAL APPLICATIONS OF 3D-BIOPRINTING TECHNIQUE: ADVANCES AND PROSPECTIVES	Gupta Swati Sanjaykumar, Rishabha Malviya	Galgotias University, Greater Noida, Uttar Pradesh, India
PERFORMANCE ASSESSMENT OF SUPERVISED MACHINE LEARNING TECHNIQUES FOR CLASSIFYING THE CHRONIC DIABETES DISEASES	C.Rajeev Karthika Natarajan	VIT - AP University, Research Scholar, School of Computer Science and Engineering, Amaravati, Andhra Pradesh, India.
A SYSTEMIC REVIEW OF HOW VITAMIN D SUPPLEMENTS CURE THE DEPRESSION SYMPTOMS IN ADULTS	Dr. Hina Khalid, Javeria Shafiq, Asad Ali Bukharee	Hajvery University Lahore, Pakistan
JUICING UP NEUROPROTECTION: EXPLORING PUNICALAGIN'S POTENTIAL AS A THERAPEUTIC AGENT FOR MITOCHONDRIAL BIOGENESIS IN PARKINSON'S AND OTHER NEURODEGENERATIVE DISEASES	Disha G.,Dr. Panadreesh M D	Adichunchangiri University, Research scholar, Department of Biochemistry, Mandya, India
PLASTIC BIODEGRADATION: A NOVEL APPROACH TO PROTECT HUMAN HEALTH AND THE ENVIRONMENT	K.R.Padma K.R.Don	Sri Padmavati Mahila Visvavidyalayam (Women's) University, Tirupati, AP Bharath Institute of Higher Education and Research (BIHER) Bharath University, Chennai, Tamil Nadu, India
DISCOVERY OF NEW ANTI-CANCER AGENTS VIA BIOINFORMATIC APPROACH	El Rhabori Said El Aissouq Abdellah Chtita Samir Khalil Fouad	Laboratory of Processes, Materials and Environment (LPME), Sidi Mohamed Ben Abdellah University, Faculty of Science and Technology, Fez, Morocco
FOURIER TRANSFORM INFRARED SPECTROSCOPY: A NOVEL APPROACH FOR CHARACTERIZATION OF FRYING PROCESS	Dr. Muhammad Haseeb Ahmad	Government College University Faisalabad
ROLE OF INTERNET OF THINGS IN MAKING THE AGRICULTURE SMARTER	Dr. Anu Sheetal Dr. Harminder Singh Dr. Meet Kumari Dr. Amit Grover Dr. Reecha Sharma	Guru Nanak Dev University, Amritsar, Punjab, India Chandigarh University, Mohali, Punjab, India
NUTRITION AND UNIVERSITY EDUCATION	Jose A. R. Cembranos Irene Fernandez-Marcos	Universidad Complutense de Madrid and IPARCOS, Spain

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.**

**Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.**

**Kindly keep your cameras on till the end of the session.**



**Session-3, Hall-1****18.03.2023****Moderator: Prof. Dr. Adem KARA****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 15:00 – 17:00**

Title	Author(s)	Affiliation
FOODBORNE BACTERIAL ZOOSES IN ONE HEALTH APPROACH	Onur TAŞ	Ondokuz Mayıs University, Türkiye
DIVERSIFICATION OF VIRULENCE AND / OR TOXIGENIC PROPERTIES OF E.COLI SUBTYPES, SEROGROUPS AND SEROTYPES ISOLATED FROM CATTLE, SHEEP AND GOAT FECES BY MULTIPLEX PCR	Sibel KIZIL Fatma Esin KIRIK Aziz Utku ÖNEL Murat YILDIRIM Cansu ÖNLEN GÜNERİ Efsun Melike ÇEÇEN	University of Kırıkkale, Türkiye Niğde Ömer Halis Demir University, Türkiye Health Sciences University, Türkiye.
ISOLATION OF <i>MUCOR PIRIFORMIS</i> , <i>RHIZOPUS STOLONIFER</i> AND <i>FUSARIUM</i> SPP. FROM COCKATIEL	Prof. Dr. Banur BOYNUKARA Prof. Dr. Timur GÜLHAN Senem ÖZTÜRK KÖSE Ahsen Kubilay ALBAYRAK	Namık Kemal University, Türkiye Ondokuz Mayıs University, Türkiye Aydın Adnan Menderes University, Türkiye Tekirdağ Namık Kemal University, Türkiye
INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF EXPERIMENTALLY ADMINISTERED FAVIPIRAVIR (T-705) ON HEART TISSUE HISTOLOGY IN RATS	Assist. Prof. Aykut ULUCAN Assist. Prof. Seda YAKUT Prof. Dr. Adem KARA	Bingöl University, Türkiye Erzurum Teknik University, Türkiye
PATHOMORPHOLOGIC AND IMMUNOHISTOCHEMICAL INVESTIGATION OF SPLEEN TISSUE IN EXPERIMENTAL AA AMYLOIDOSIS MODEL IN MICE	Assist. Prof. Aykut ULUCAN	Bingöl University, Türkiye
EVALUATION OF HEMOGRAM DATA OF DOGS IN ADANA REGION	Halil YAVUZ Yavuzkan PAKSOY	Necmettin Erbakan University, Türkiye
EVALUATION OF CANINE PARVOVIRUS INFECTION BY MOLECULAR, SEROLOGICAL, EPIDEMIOLOGICAL, HEMATOLOGICAL AND C-REACTIVE PROTEIN LEVELS	Pınar PALANCI Assist. Prof. Bilge Kaan TEKELİOĞLU	Çukurova University, Türkiye

All participants must join the conference 10 minutes before the session time.

Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.

Kindly keep your cameras on till the end of the session.

**Session-3, Hall-2****18.03.2023****Moderator: Prof. Dr. Özgür ÇELEBİ****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 15:00 – 17:00**

Title	Author(s)	Affiliation
ALKALINE PHOSPHATASE, TOTAL PROTEIN, GLUCOSE AND ALBUMIN LEVELS IN RAHWAN HORSES IN ARDAHAN REGION	Assist. Prof. Cemalettin AYVAZOĞLU	Ardahan University, Türkiye
DETERMINATION OF ANTIMICROBIAL POTENTIALS OF SOME SHAKING TEAS FOR SALE COMMERCIALY	Biyolog Seda ÇİTİL Assist. Prof. Elif ÇELİK Assoc. Prof. Aliye GÜLMEZ SAĞLAM Prof. Dr. Özgür ÇELEBİ Prof. Dr. Salih OTLU	Kafkas University, Türkiye
SPECIES-BIOTYPE DETERMINATION OF BRUCELLA ISOLATES OBTAINED FROM SHEEP AND CATTLE ABORTIONS	Assist. Prof. Elif ÇELİK Assoc. Prof. Aliye GÜLMEZ SAĞLAM Ress. Assist. Seda DURHAN Prof. Dr. Fatih BÜYÜK Assist. Prof. Mustafa Reha COŞKUN Prof. Dr. Salih OTLU Prof. Dr. Mitat ŞAHİN	Kafkas University, Türkiye
SALMONELLA ABORTUS EQUI IN MARES: A CRITICAL APPROACH TO LABORATORY DIAGNOSIS	Dr. Derya KARATAŞ YENİ	Necmettin Erbakan University, Türkiye
INVESTIGATION OF SOME IMPORTANT BACTERIAL AGENTS FROM ABORTED BOVINE AND SHEEP FETUSES BY MOLECULAR METHODS	Assoc. Prof. Aliye GÜLMEZ SAĞLAM Dr. Öğr. Üyesi Elif ÇELİK Prof. Dr. Özgür ÇELEBİ Prof. Dr. Fatih BÜYÜK Araş. Gör. Eray BÜYÜK Prof. Dr. Mitat ŞAHİN	Kafkas University, Türkiye
THE USE OF MICROSENSORS IN DIAGNOSIS: AN EXAMPLE OF APTAMER	Evrin GENÇ Görkem TOPAL Oktay GENÇ Özlem BÜYÜKTANIR YAŞ	Ondokuz Mayıs University, Türkiye
ISOLATION OF <i>ARCOBACTER</i> SPP. FROM CATTLE CARCASSES, MOLECULAR TYPING AND ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY OF ISOLATES	Assoc. Prof. Harun HIZLISOY Kübra TANK Ress. Assist. Mukaddes BAREL Kürşat KÖSKEROĞLU	Erciyes University, Türkiye
THE EFFECT OF PASTURE HABITS OF CATTLE IN THE NARMAN DISTRICT OF ERZURUM PROVINCE ON COLOSTRUM GAMMA-IMMUNOGLOBULIN (IgG) LEVELS	Assist. Prof. Muhammet Ali TUNÇ Assoc. Prof. Betül APAYDIN YILDIRIM	Atatürk University, Türkiye
DETERMINATION OF $\beta$ -LACTAM, AMINOGLYCOSIDE AND QUINOLONE RESISTANCE IN FAECAL <i>E. coli</i> ISOLATES FROM CAT AND DOG	Assoc. Prof. Belgi DİREN SİĞİRCİ Dr. Baran ÇELİK Dr. Barış HALAÇ Dr. Ayşe Ilgın KEKEÇ Assoc. Prof. Beren BAŞARAN KAHRAMAN Prof. Dr. A.Funda BAĞCIGİL Prof. Dr. Seyyal AK	İstanbul -Cerrahpaşa University, Türkiye

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.****Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.****Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-3, Hall-3****18.03.2023****Moderator: Prof. Dr. Emine ATAĞIŞI****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 15:00 – 17:00**

Title	Author(s)	Affiliation
AMELIORATIVE EFFECT OF BEE POLLEN CISTUS CRETICUS L. ON THE OXIDANT-ANTIOXIDANT SYSTEM IN STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETIC RATS	Prof. Dr. Sibel TAŞ Prof. Dr. Melahat DİRİCAN Prof. Dr. Aycan BİLİŞİK TOSUNOĞLU Prof. Dr. Emre SARANDÖL	Bursa Uludağ University, Türkiye
DISTRIBUTION OF LACTOBACILLI IN POULTRY AND THEIR RESISTANCE PROFILES TO MACROLIDE-LINCOSAMIDE-STREPTOGRAMIN (MLS) ANTIBIOTICS	Canan KENAR NİZAMLIOĞLU Assoc. Prof. Belgi DİREN SİĞIRCI Prof. Dr. Serkan İKİZ	Pendik Veterinary Control Institute, Mycoplasma Reference Laboratory, Istanbul, Türkiye Istanbul University-Cerrahpaşa, Türkiye
AN ALTERNATIVE STRATEGY IN POULTRY INDUSTRY: GENOME EDITING	Asst. Prof. Zühal GÜNDÜZ Assoc. Prof. Onur YILMAZ Asst. Prof. Nezih ATA	Aydın Adnan Menderes University, Aydın, Türkiye
ASSESSMENT OF GENETIC DIVERSITY AND CONSERVATION STRATEGIES IN SMALL RUMINANTS REARED IN TÜRKİYE	Asst. Prof. Zühal GÜNDÜZ Asst. Prof. Nezih ATA Assoc. Prof. Onur YILMAZ	Aydın Adnan Menderes University, Aydın, Türkiye
EFFECTS OF A-LIPOLIC ACID ON POLYPHENOL OXIDASE ACTIVITY IN SPLEEN TISSUE OF RATS TREATED WITH ACITRETIN AND METHOTREXATE	Assoc. Prof. Emine DIRAMAN Emine İNCİLAY TORUNOĞLU Dr. Fatma Gönül SEZGİN	Ondokuz Mayıs University, Türkiye Necmettin Erbakan University, Türkiye
5-HT <sub>3</sub> RECEPTOR AGONIST SR-57227 AGGRAVATES HYDROGEN PEROXIDE (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )-INDUCED OXIDATIVE DAMAGE IN C6 GLIOMA CELL LINE	Araş. Gör. Onur DURNA Assoc. Prof. Ahmet Şevki TAŞKIRAN	Sivas Cumhuriyet University, Türkiye
INVESTIGATION OF SERUM AST, ALT, ALP and GGT ACTIVITIES IN PERIPARTURIENT COWS	Ress. Assist. Dr. Serpil AYGÖRMEZ Ress. Assist. Lale BAŞER Prof. Dr. Emine ATAĞIŞI	Kafkas University, Türkiye
BIOCHEMICAL ANALYSIS OF SOME INDICATORS OF PROTEIN METABOLISM IN THE PERIPARTURIENT PERIOD IN DAIRY COWS	Prof. Dr. Emine ATAĞIŞI Ress. Assist. Dr. Serpil AYGÖRMEZ Ress. Assist. Lale BAŞER	Kafkas University, Türkiye

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.****Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.****Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-3, Hall-4****18.03.2023****Moderator: Luca Esposito****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 15:00 – 17:00**

Title	Author(s)	Affiliation
A NEW MODEL OF CIRCULAR ECONOMY WITH BIOGAS: FOOD, ENERGY AND SOIL FERTILITY	Luca Esposito	University of Salerno, Department of economics and statistics, Fisciano, Italy University of Eastern, Karelian Institute Finland, Joensuu
MICROWAVE PYROLYSIS OF PURE AND MIXED PLASTIC WASTES INTO HYDROGEN AND VALUABLE CARBON USING SODIUM ZEOLITE CATALYST	Rishmail Saleem, Shazia Shukrullah, Muhammad Yasin Naz	University of Agriculture Faisalabad, 38040, Pakistan
USING NANOTECHNOLOGY TO ENHANCE NUTRIENT BIOACCESSIBILITY	Christian Chapa Jazmín Cristina Stevens	Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Instituto de Ciencias Biomédicas, Ciudad Juárez, México
BIOACTIVE PEPTIDES OF PLANT ORIGIN	Margherita-Gabriella De Biasi	University of Naples Federico II, Via Domenico Montesano 49, 80131 Napoli, Italy
PROTECTIVE EFFECTS OF MELATONIN AGAINST OXIDATIVE STRESS CAUSED BY IRON CHRONIC ADMINISTRATION COMPARED TO EDTA CHELATOR	A. Rezqaoui, L. Ibouzindine, A. Elhamzaoui, M. Y. El Brouzi, A. El hessni, A. Mesfioui	Ibn Tofail University, Kenitra, Morocco
VERTEBRATE DIVERSITY AT MARGALLA HILLS NATIONAL PARK, PAKISTAN	Irfan Aslam, Roheela Yasmeen	Lahore Garrison University, Lahore
USING COST-EFFECTIVE BIOADSORBENTS TO REMOVE AQUEOUS WASTE	Djellouli Amir, Berredjem Yamina, Hattab Zhour, Khechai Mohamed, Barbari Fateh, Abdesselam Bouguerra	Université mohammed chérif mesaadia de Souk-Ahras, Algeria University of soukahras, Algeria Badji Mokhtar-Annaba University, Algeria. University of Biskra, Algeria Center for Scientific and Technical Research on Arid regions CRSTRA, Algeria Laboratory of Physics of Matter and Radiation (LPMR)
REVOLUSION IN THE WORLD OF COMBUSTION	Rumyantsev V.R. Savinov V.P.	Engineering Primary and Scientific Institute named after. Yu.M. Potebni ZNU
STATUS OF WATER SUPPLY AND SANITATION IN HADEJIA LOCAL GOVERNMENT, JIGAWA STATE, NIGERIA	Nura Isyaku Bello, Ahmad Said Abubakar, Hassan Adamu, Muslim Musa Yakubu	Aliko Dangote University of Science and Technology, Wudil Aminu Kano College of legal and Islamic Studies

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.****Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.****Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-3, Hall-5****18.03.2023****Moderator: Dr. Syed Makhdoom Hussain****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 15:00 – 17:00**

Title	Author(s)	Affiliation
COVID-19 AWARENESS, ATTITUDES AND PRACTICES AMONG RESIDENTS OF THE ASIR IN SAUDI ARABIA	Habab M Yassin, Sazada Siddiqui, Abeer Alahmari	King Khalid University, Saudi Arabia Alneelain University, Sudan
DISTRIBUTION ROUTES OF THE INVASIVE ALIEN SPECIES I. GLANDULIFERA ROYLE IN THE ISKAR RIVER GORGE BETWEEN PLANA AND LOZENSKA MOUNTAINS (SOUTHWESTERN BULGARIA)	Plamen Glogov	Forest Research Institute- Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria
SILVER NANOPARTICLES FORMULATION ENCAPSULATED BY MUCILAGE HYDROGEL FOR SUSTAINED RELEASE OF DRUG	Fozia Anjum, Muhammad Shahid	Govt. College University, Pakistan University of Agriculture, Pakistan
DURABILITY OF SUSTAINABLE CONCRETE SUBJECTED TO ELEVATED TEMPERATURE	Subhashish Dey	Seshadri Rao Gudlavalleru Engineering College, Gudlavalleru, A.P. India
DETERMINATION OF SOME PHYSICO-CHEMICAL PARAMETERS AND SOME HEAVY METALS IN WATER SAMPLES FROM RUMA RIVER, MALLAMAWA RIVER AND JIBIA DAM IN KATSINA STATE, NIGERIA	Adam Sulaiman Umar Fatima Binta Suleiman, Abubakar Sani	Federal Polytechnic Daura, School of Engineering Science and Technology, Department of Science Laboratory Technology, Katsina State, Nigeria
WATER TREATMENT PROCESSES AND USED TECHNOLOGIES	Mohamed Saed Ali, Dr. Suman Lata, C.Mohan	Sharda University
UTILIZATION OF PLANT PROTEIN SOURCES AND SUPPLEMENTS IN AQUA-FEEDS: A NEW APPROACH FOR SUSTAINABLE AQUACULTURE	Dr. Syed Makhdoom Hussain	Government College University, Faisalabad, Pakistan
SENSITIVITY ANALYSIS OF KINETIC RATE REACTIONS FOR THERMAL DEGRADATION OF PLASTIC WASTE AT A FIXED TEMPERATURE USING STATISTICALLY ASSUMED EXPONENTIAL FACTORS AND ACTIVATION ENERGIES	Rao Adeel Un Nab, Hammad Hussain, Shazia Shukrullah, Muhammad Yasin Naz, Abdul Ghaffar	University of Agriculture Faisalabad, 38040, Pakistan.
MICROWAVE PYROLYSIS OF HIGH-DENSITY POLYETHYLENE AND POLYPROPYLENE USING SODIUM ZEOLITE CATALYST AND ACTIVATED CARBON	Rishmail Saleem,, Hammad Hussain, Shazia Shukrullah, Muhammad Yasin Naz, Abdul Ghaffar	University of Agriculture Faisalabad, 38040, Pakistan.

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.**

**Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.**

**Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-3, Hall-6****18.03.2023****Moderator: Dang Hoang Xuan Huy****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 15:00 – 17:00**

Title	Author(s)	Affiliation
POTENTIAL IMPACTS OF BRINE DISCHARGE ON MARINE LIFE	Ben Ahmed Samia Jridi Mouna	King Khalid University, Faculty of science, Chemistry department, Abha, KSA
EVALUATING THE PRODUCTION EFFICIENCY OF OFFSHORE PURSE SEINE FISHING IN CA MAU PROVINCE, VIETNAM	Dang Hoang Xuan Huy, Nguyen Trong Luong, Nguyen Thi My Dung	Nha Trang University, Vietnam. Fisheries Sub-Department of Ca Mau Province, Vietnam
EFFECTS OF HUMAN SETTLEMENT ON THE ENVIRONMENT IN THE DISTRICT OF TOGBA (BENIN)	Pamphile HOUNDJI Kevin Ponce Anselme DOVONOU Raymond D. KOUMAGNON	University of Abomey-Calavi / Benin
INTEGRATION OF ISLAMIC VALUES IN BIOLOGY SCIENCE LEARNING	Adinda Riski Amalia	State Islamic University K.H. Abdurrahman Wahid Pekalongan, Indonesia
EFFECT OF VEGETABLE WASTAGE INCORPORATED <i>SPIRULINA</i> DIET ON THE PIGMENTATION OF GOLD FISH	Vikranti Patel Kapila Manoj Ankit Chaudhari	Dept. of Aquatic Biology, Veer Narmad South Gujarat University, Surat 395007, Gujarat, India
CLIMATE RESILIENT LIVESTOCK PRODUCTION: SIGNIFICANCE OF IDENTIFYING AGRO ECOLOGICAL ZONES SPECIFIC BREEDS	K. Devadharshini G. Kalaignazhal M. V. Silpa V. Sejian	Rajiv Gandhi Institute of Veterinary Education and Research, Kurumbapet, Pondicherry-605009, India
SHELTER MANAGERMENTAL STRATEGIES FOR PROTECTING GOATS FROM CLIMATIC STRESS	ARUNIMA K.M CARMEL PRINS D. SREEKUMAR V. SEJIAN	Veterinary Intern, Rajiv Gandhi Institute Of Veterinary Education and Research , Puducherry India
DIFFERENT BIOMARKERS FOR QUANTIFYING HEAT STRESS RESPONSE IN LIVESTOCK	G. Kalaignazhal K. Devadharshini M. V. Silpa V. Sejian	Rajiv Gandhi Institute of Veterinary Education and Research, Kurumbapet, Pondicherry-605009, India

All participants must join the conference 10 minutes before the session time.

Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.

Kindly keep your cameras on till the end of the session.

**Session-4, Hall-1****18.03.2023****Moderator: Prof. İsa ÖZAYDIN****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 17:30 – 19:30**

Title	Author(s)	Affiliation
THE EFFECT OF CLINOPTILOLITE ADDED TO THE EXTENDER IN COOLED DOG SPERM ON SPERMA QUALITY	Nurdan COŞKUN ÇETİN Fikret KARACA	Hatay Mustafa Kemal University, Türkiye
A CASE OF TOTAL URINARY BLADDER TUMOR AND BLADDER STONES IN A DALMATIAN DOG	Prof. Dr. Ali BELGE Lect. Eser ÇAKMAKÇI Ahmet Ege ERDOĞAN Fatma YİĞİT GÖK	Aydın Adnan Menderes University, Türkiye
PARTIAL AMPUTATION OF FORELIMB AND PROSTHETIC LEG APPLICATION IN A HOLSTEIN CALF	Prof. Dr. Ali BELGE Lect. Eser ÇAKMAKÇI Vet. Hekim Ahmet GÜRSEL Vet. Hekim Ahmet Ege ERDOĞAN Vet. Hekim Gecer ÇELİK	Aydın Adnan Menderes University, Türkiye
A CASE OF UVEODERMATOLOGICAL SYNDROME IN A HUSKY DOG: A CLINICAL REPORT	Prof. Dr. Ali BELGE Assoc. Prof. Songül ERDOĞAN Lect. Eser ÇAKMAKÇI Vet. Hekim Gaye DEĞİRMENCİ	Aydın Adnan Menderes University, Türkiye
CASE OF KERATOMALACIA IN A CHINCHILLA BREED CAT AND ITS MEDICAL TREATMENT	Prof. Dr. Ali BELGE Lect. Eser ÇAKMAKÇI Vet. Hekim Ceyda ÇAKAR Vet. Hekim Fatma YİĞİT GÖK Vet. Hekim Gaye DEĞİRMENCİ	Aydın Adnan Menderes University, Türkiye
A RETROSPECTIVE VIEW OF EYE DISEASES IN SMALL BREED DOGS (2015-2019): 153 CASES	Assist. Prof. Çağrı GÜLTEKİN	Yakın Doğu Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Lefkoşa, KKTC
EVALUATION OF FACIAL THERMAL WINDOWS IN DOGS BEFORE AND AFTER GENERAL ANESTHESIA	Ress. Assist. Ayşe Başak Kapçak Assist. Prof. Mümin Gökhan Şenocak Assoc. Prof. Elif Doğan	Kastamonu University, Türkiye e Kastamonu University, Türkiye

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.****Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.****Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-4, Hall-2****18.03.2023****Moderator: Prof. Dr. Barış SARI****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 17:30 – 19:30**

Title	Author(s)	Affiliation
MACROANATOMIC AND MORPOMETRIC INVESTIGATION OF THE BROWN BEAR HUMERUS	Assoc. Prof. Gülseren KIRBAŞ DOĞAN Assoc. Prof. İftar GÜRBÜZ Assoc. Prof. Yasin DEMİRASLAN	Kafkas University, Türkiye Mehmet Akif Ersoy University, Türkiye
THE EFFECT OF BETAIN ADDITIONAL ON BREAST MALONDIALDEHYDE AND GLUTATION LEVELS IN QUAILS	Assoc. Prof. Mustafa MAKAV Prof. Dr. Tarkan ŞAHİN	Kafkas University, Türkiye
THE FIRST CASE OF EUCLINOSTOMUM SP. ON A WHITE PELICAN (PELECANUS ONOCROTALUS) IN TÜRKİYE	Prof. Dr. Meral Aydenizöz Assoc. Prof. Emrah Şimşek Assist. Prof. Aykut Zerek Res. Assist. İpek Erdem Prof. Dr. Mehmet Yaman	Kırıkkale University, Türkiye Muğla Sıtkı Koçman University, Türkiye Hatay Mustafa Kemal University, Türkiye
THE PREVALENCE OF GASTROINTESTINAL NEMATODES IN CATTLE IN AĞRI REGION	Assist. Prof. Nilgün AYDIN Cuma SALTAN Assoc. Prof. Gencay Taşkın TAŞÇI	Kafkas University, Türkiye
DETECTION AND PREVALENCE OF CRYPTOSPORIDIOSIS AND COCCIDIOSIS IN GURCU GOATS	Assist. Prof. Neslihan ÖLMEZ Assist. Prof. Nilgün AYDIN Prof. Dr. Barış SARI Assoc. Prof. Gencay Taşkın TAŞÇI	Kafkas University, Türkiye
THE PREVALENCE OF ECTOPARASITES IN DOGS BROUGHT TO VET CLINICS WITH COMPLAINTS OF SKIN DISORDER	Assoc. Prof. Sami GÖKPINAR Tuğçe UĞUR Gizem ÇUBUKÇU	Kırıkkale University, Türkiye Vetvital Veteriner Kliniği, Ankara, Türkiye.
GHRELIN AND ITS RELATIONSHIP WITH THE GASTROINTESTINAL SYSTEM	Miray AYKOÇ Assist. Prof. Ece KOÇ YILDIRIM	Aydın Adnan Menderes University, Türkiye
BLOOD CLOT IN THE URINARY BLADDER OF A CAT: A CASE REPORT	Assoc. Prof. Ekin Emre ERKİLİÇ Dr. Uğur YILDIZ Assist. Prof. Emin KARAKURT Araş. Gör. Yusuf Umut BATI Araş. Gör. Hilmi NUHOĞLU Araş. Gör. Ersin TANRIVERDİ Veteriner Hekim Gizem ÖNAL Prof. Dr. Burhan ÖZBA Prof. Dr. Ali Haydar KIRMIZIGÜL	Kafkas University, Türkiye
FORENSIC ENTOMOLOGY	Talha TAŞ Abdüllatif EMİRİKCİ Mustafa Furkan PALA Assist. Prof. Onur KÖSE Prof. Dr. Ramazan ADANIR	Mehmet Akif Ersoy University, Türkiye
A RARE CASE OF CEBOCEPHALY AND ARHINIA IN A KILIS GOAT KID	Assoc. Prof. Ahmet UYAR	Hatay Mustafa Kemal University, Türkiye

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.****Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.****Kindly keep your cameras on till the end of the session.**



**Session-4, Hall-3****18.03.2023****Moderator: Darwin H. Pangaribuan****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 17:30 – 19:30**

Title	Author(s)	Affiliation
EFFECTS OF INTERCROPPING WITH MAIZE ON THE GROWTH AND TOLERANCE TO DROUGHT AND SALINITY OF TOMATO PLANTS ( <i>SOLANUM LYCOPERSICUM</i> L.)	Rana Choukri Mohamed Faize Maria Manuela Rigano Manuel Rodriguez-Concepcion Jaime F. Martinez-Garcia Michel Havaux Mourad Baghour	University Mohammed I, Faculty of Nador, Department of Biology, Nador, Morocco. University Chouaib Doukkali, Faculty of Sciences, Department of Biology, El Jadida, UNINA, University of Naples, Naples, Italy Institute for Plant Molecular and Cell Biology, CSIC, Spain Institute for Plant Molecular and Cell Biology, CSIC, Spain AM, CNRS-CEA-Aix Marseille University, Marseille, France University Mohammed I, Faculty of Nador, Department of Biology, Nador, Morocco.
EFFECT OF THE CONTRIBUTION OF WASTE SLUDGE PRODUCED AT THE URBAN WASTEWATER TREATMENT PLANT OF THE CITY OF BOUIRA ON THE VEGETATIVE GROWTH AND YIELD OF CROPS	T.IDIR, N. MAIZI	University of Science and Technology (USTHB) HouariBoumediene, Algeria University AkliMohandOulhadj, Algeria
FEATURES OF LIGULOSIS RUTILUS RUTILUS AND ABRAMIS BRAMA IN THE DNIPRO RESERVOIR	Victoria Stanislavivna Sydorenko	Dnipro National University named after Oles Honchar, Ukraine
FUNCTIONAL FEATURES OF PLATELETS IN CALVES AT THE END OF EARLY ONTOGENE	Svetlana Yurievna Zavalishina, Marina Veniaminovna Mekhanikova	Vologda State Dairy Farming Academy named after N.V. Vereshchagin, Vologda, Russia
THE EFFECT OF VERMICOMPOST AND P FERTILIZER ON GROWTH, YIELD AND SOIL HEALTH OF SWEET CORN ( <i>ZEA MAYS</i> L.)	Darwin H. Pangaribuan, Yohanes Cahaya Ginting, Chatya Novtri Anisa, Lamria Stefani M. Sihite	Universitas Lampung, Indonesia
IMPORTANCE OF FORENSIC ENTOMOLOGY DURING INVESTIGATION OF CRIMES	Srdjan B. Segic, Gordana B. Mauna	University in Belgrade, Serbia
EFFECT OF TOXIC SOLVENT EXTRACTION OF THE CALOTROPIS PROCERA PLANT ON HEPATIC AND RENAL FUNCTION	Belfarhi Leila	University of Annaba
BIOGENIC SYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES USING LEAF EXTRACTS OF CHROMOLAENA ODORATA, TITHONIA DIVERSIFOLIA, AND SOLENOSTEMON MONOSTACHYUS	Olawepo, Gabriel Kehinde and Adeniran, Deborah Adeola	University of Ilorin, Nigeria

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.****Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.****Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-4, Hall-4****18.03.2023****Moderator: Prof. Dr. Jafar Massah****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 17:30 – 19:30**

Title	Author(s)	Affiliation
GENERATING ELECTRICITY FROM ALGAE & SEVERAL DIFFERENT PLANTS	Sadaf rashidi, jafar massah	College of Abouraihan, university of Tehran, Iran
DEVELOPMENT OF AN ELECTRICAL HEATER FOR PROTECTING TREE IN WINTER	Jafar Massah	College of Abouraihan, university of Tehran, Iran
SOIL ADHESION REDUCTION BY THE ELECTRO-OSMOTIC METHOD	Prof. Dr. Jafar Massah	College of Abouraihan, university of Tehran, Iran
ROLE OF POLYPHENOLIC RICH EXTRACT FROM EUPHORBIA MILII FLOWERS ON VARIOUS SPECIES OF FREE RADICALS-AN IN VITRO STUDY	Dr. Anila L. Dr. M S Hashim	NSS College, Nilamel, Kollam, Kerala, INDIA
INVESTIGATION OF THE ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY AND NUTRITIONAL VALUE OF THE LEAVES OF CALOPOGONIUM MUCUNOIDES	Mercy EbereEgele, Osmund Chukwuma Enechi, Christian ChijiokeAmah, Jacob Ikechukwu Okoro, Ursula ChidimmaObelenwa	Coal City University, Nigeria Godfrey Okoye University University of Nigeria Nsukka, Nigeria Alex Ekwueme Federal University, Nigeria
DISTRIBUTION AND CONTROLLED STORAGE OF THE MEDICINAL SPECIES GLYCYRRHIZA GLABRA L.	Stanislava Stateva	Institute of Plant Genetic Resources, „ Konstantin Malkov” Sadovo, Plovdiv, Bulgaria
BIOCHEMICAL INVESTIGATION OF CRUDE EXTRACTS PREPARED FROM THE MEDICINAL PLANT ERINACEA ANTHYLLIS	Soumia Mouffouk, Chaima Mouffouk and Hamada Haba	Université de Batna-1, Batna 05000, Algérie

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.**

**Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.**

**Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-1, Hall-1****19.03.2023****Moderator: Prof. Dr. Ekrem LAÇIN****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 10:00 – 12:00**

Title	Author(s)	Affiliation
WHY DOES FOOTPAD DERMATY OCCUR IN BROILER CHICKENS?	Ayşe UYSAL Prof. Dr. Ekrem LAÇIN Assoc. Prof. Fatih YILDIRIM Assoc. Prof. Murat GENÇ Assist. Prof. Uğur ÖZENTÜRK	Atatürk University, Türkiye
THE IMPORTANCE OF USE OF LITTER IN SHEEP	Ayşe UYSAL Prof. Dr. Ekrem LAÇIN Res. Assist. Şermin TOP Res. Assist. Dr. Emre YILMAZ Res. Assist. Dr. Soner UYSAL	Atatürk University, Türkiye
THE IMPORTANCE OF MATERNAL CARE FOR CHICK WELFARE	Assist. Prof. Ugur OZENTURK	Atatürk University, Türkiye
DETERMINATION OF GENOTYPIC STRUCTURE IN ILE DE FRANCE SHEEP IN TERMS OF <i>KISS1</i> g.2124T>A POLYMOPHISM	Assoc. Prof. Deniz DİNÇEL Emine Mutlu	Bursa Uludağ University, Türkiye
YOLK SAC UTILIZATION IN POULTRY	Res. Assist. Merve Gündüz Assoc. Prof. Arda Sözcü Ahmet Kaşif	Bursa Uludağ University, Türkiye
BREEDING CAUSES OF REPEAT BREEDER SYNDROME IN CATTLE	Assoc. Prof. Murat GENÇ Prof. Dr. Ömer ÇOBAN Ayşe UYSAL	Atatürk University, Türkiye
EXAMINATION OF HERD MANAGEMENT SYSTEM MODULES AND DESIGN OF AN IOT SUPPORTED MODEL	Lec. Dr. Kamil Aykotalp GÜNDÜZ Prof. Dr. Fatih BAŞÇİFTÇİ Assist. Prof. Züleyha Yılmaz ACAR	Selçuk University, Türkiye
IDENTIFICATION AND TRACKING OF COWS USE OF YOLOv7 + SORT ASSOCIATION	Dr. Cafer Tayyar BATI Assoc. Prof. Gazel SER	Van Yüzüncü Yıl University, Türkiye
POTENTIAL EFFECT OF HIVE COLOR ON HONEY BEE COLONY PERFORMANCE	Dr. Cengiz ERKAN Yesribe ÖZTÜRK	Van Yüzüncü Yıl University, Türkiye

All participants must join the conference 10 minutes before the session time.

Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.

Kindly keep your cameras on till the end of the session.

**Session-1, Hall-2****19.03.2023****Moderator: Prof. Dr. Mehmet Akif YÖRÜK****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 10:00 – 12:00**

Title	Author(s)	Affiliation
COMPARISON OF LAYING PERFORMANCE, EGG QUALITY AND BONE CHARACTERISTICS OF COMMERCIAL AND TURKISH LAYING HEN GENOTYPES KEPT IN A FREE-RANGE SYSTEM	Assoc. Prof. Arda Sözcü Prof. Dr. Aydın İpek Res. Assist. Merve Gündüz	Bursa Uludağ University, Türkiye
INVESTIGATION OF THE OPPORTUNITIES THAT HONEY BEES CAN BENEFIT FROM THEIR ANTENNAS AND VIBRATION FREQUENCY IN FINDING THE DIRECTION	M. Kazım Kara Çiğdem EGE TAYMUŞ	Iğdir University, Türkiye
THE SITUATION AND IMPORTANCE OF SILK WORM FOR TURKEY	Ferhat Mazlum ODUNCU Prof. Dr. Muzaffer DENLİ	Dicle University, Türkiye
THE EVALUATION OF THE REPRODUCTION AND GROWTH PERFORMANCE OF KIVIRCIK SHEEP BREEDS IN BALIKESİR PROVINCIAL CONDITIONS	Assist. Prof. Muharrem SATILMIŞ Assist. Prof. Murat ER	İzmir Bakırçay University, Türkiye
THE DETERMINATION GROWTH PERFORMANCE AND SOME BODY SIZES OF LAMBS IN QARADOLAQ	Orkhan HAJIYEV Prof. Dr. Filiz AKDAĞ	Göyçay, AZERBAIJAN Ondokuz Mayıs University, Türkiye
THE RELATIONSHIP BETWEEN LIVE WEIGHT AND TAIL MEASUREMENTS IN AKKARAMAN, KARAYAKA AND HERİK LAMBS FED A HIGH FORAGE AND CONCENTRATE DIET	Buket BAYIR Doç.Dr. Mustafa UĞURLU Res. Assist. Akif UYSAL Deniz AY Furkan ATALAR Prof. Dr. Filiz AKDAĞ Prof. Dr. Bülent TEKE	Ondokuz Mayıs University, Türkiye
THE EFFECT OF BREED AND TEMPERAMENT FACTORS ON SOME BEHAVIORAL TRAITS IN MALE LAMBS	Buket BAYIR Res. Assist. Akif UYSAL Deniz AY Prof. Dr. Filiz AKDAĞ	Ondokuz Mayıs University, Türkiye

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.**

**Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.**

**Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-1, Hall-3****19.03.2023****Moderator: Prof. Dr. Vedat BARAN****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 10:00 – 12:00**

Title	Author(s)	Affiliation
EFFECTS OF THE COVID-19 PROCESS ON VETERINARY	Raziye Filiz AKKUŞ Prof. Dr. Vedat BARAN	Ardahan University, Türkiye
AN ADVENTURE IN THE PANDEMIC PROCESS: SHEEP RAISING IN ARDAHAN	Raziye Filiz AKKUŞ Prof. Dr. Vedat BARAN	Ardahan University, Türkiye Kafkas University, Türkiye
ANIMAL POPULATION CALCULATION FOR BIOFUEL PRODUCTION FROM ANIMAL WASTE FATS	Fatıma Büşra ASLAN Prof. Dr. Kıralı MÜRTEZAOĞLU Prof. Dr. Mehmet MELİKOĞLU	Gazi University, Türkiye
DETERMINATION OF NUTRITION KNOWLEDGE LEVEL OF STUDENTS OF FACULTY OF VETERINARY MEDICINE: EXAMPLE OF SAMSUN	Uzm. Dyt. Pınar Demir Prof. Dr. Dilek ÇELİKLER	Ondokuz Mayıs University, Türkiye
CALF LOSSES AND ECONOMIC EFFECTS IN DIYARBAKIR DAIRY FARMS	Ümit AVCIOĞLU Adem AKSOY Abdülbaki BİLGİÇ M. Sinan AKTAŞ M. Ali TUNÇ	Atatürk University, Türkiye
TRANSFORMATION OF LIVESTOCK ENTERPRISES IN THE CONTEXT OF HEALTH AND PRODUCTIVITY IN THE AGE OF ARTIFICIAL INTELLIGENCE	Assist. Prof. Onur OKTAYSOY Assist. Prof. Ethem TOPÇUOĞLU	Kafkas University, Türkiye İstanbul Arel University, Türkiye
A RESEARCH ON THE "TÜRK BAYTARLAR CEMİYETİ MECMUASI" NOT PUBLISHED PERIODICALLY	Assist. Prof. Aytaç Ünsal Adaca	Ankara University, Türkiye

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.  
Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.  
Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-1, Hall-4****19.03.2023****Moderator: Dr. Jyoti Pandey****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 10:00 – 12:00**

Title	Author(s)	Affiliation
CHARACTERIZATION OF QUERCUS ILEX ACORNS AND THEIR ASSOCIATED BIO-AGGRESSORS	Dalila Mecellem	University of Bouira, Faculty S NVST, Department of agronomy, Algeria
ASSESSMENT OF FARMERS' ADAPTATION STRATEGIES TO FLOOD RELATED LOSSES IN ONE AREA OF EKITI STATE, NIGERIA	Jibrin, S., Salihu, I. T., Mohammed, U. H., Abdullahi, A. and Mohammed, Y	Federal University of Technology Minna, Niger State, Nigeria
EFFECTS OF RHIZOCTONIA SOLANI INFECTION ON CHLOROPHYLL BIOSYNTHESIS AND CARBOHYDRATE CONTENT OF PEANUT SEEDLING	Fatemeh Afaridoon Mona Sorahinobar Khadijeh Kiarostami Samira Shahbazi	Alzahra University, Tehran, Iran
BIOACTIVE COMPOUNDS AND ANTIBACTERIAL EFFECTS OF GOSSYPIUM BARBADENSE L. LEAVES: AN ETHANOLIC EXTRACT STERILIZED WITH AN AUTOCLAVE AND SYRINGE FILTER	Ahmed Salisu Kamaluddeen Kabir Yusuf Hassan Abubakar Sani Maryam Saddiq	Umaru Musa Yar'adua University, Nigeria
PREPARATION OF NANOFORMULATIONS OF F.VULGARE WITH ENHANCED BIOLOGICAL POTENTIAL	Tanzeela Khalid, Tahir Farooq, Ghulam Hussain, Arruje Hameed	Government College University, Pakistan
SEA WATER DESALINATION PLANTS BY SWRO FROM ALGERIAN WEST COAST: CURRENT SITUATION	Mehtougui Mohamed Samir, Baaloudj Affef, Kerfouf Ahmed	Djillali Liabes University, Algeria Guelma University, Algeria
ACETIC ACID FOLIAR SPRAY ENHANCED DROUGHT STRESS TOLERANCE IN SOYBEAN	Oqba Basal, Urin Munkhbat, Szilvia Veres	University of Debrecen, Hungary
AGRITECH INDIA: MODERNIZATION OF THE AGRICULTURE FIELD USING NEW TECHNOLOGIES	Jyoti Pandey, Praveen Garg, Sulekha Tripathi, Shree Ram Agrawal	VIMS, College, Satna

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.**

**Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.**

**Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-1, Hall-5****19.03.2023****Moderator: Dr. Priyanka Das****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 10:00 – 12:00**

Title	Author(s)	Affiliation
NATURAL DIET COMPOSITION OF THE DEEP-WATER ROSE SHRIMP <i>PARAPENEUS LONGIROSTRIS</i> (DECAPODA, DENDROBRANCHIATA, PENAEIDAE), FROM ALGERIAN WEST COAST	Ghizlène Hadjéj Aouel, Mahmoud Adnane Benallal, Ahmed Kerfouf	University of Tlemcen, Algeria University of Sidi Bel Abbes, Algeria
NUTRIENT BASED LAND SUITABILITY OF BORO PADDY AND WHEAT AND PROFIT MARGIN ASSESSMENT: A CASE FROM WEST BENGAL, INDIA	Priyanka Das, Assistant Professor	Malda Women's College, Malda, West Bengal, India
GAMIFICATION OF SCIENCE COMMUNICATION: USING GAMES TO ENGAGE AND EDUCATE PEOPLE ABOUT SCIENTIFIC CONCEPTS	Anshul JAIN	Jagran Lakecity University, Jagran School Of Creative Studies, Bhopal, India
BIOREMEDIATION: A SOLUTION TO DAIRY AND POULTRY WASTE DISPOSAL	Rohan Srivastava, Saimah Khan	Integral University, Lucknow
FUNCTIONALIZED REAGENTS IN CHEMICAL ANALYSIS OF AGRICULTURAL SOILS	Serghey A. Shapovalov	Research Institute of Chemistry, V N. Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv 61022, Ukraine
FUNCTIONAL GROUPS OF INVERTEBRATES ACCORDING TO TROPHIC PREFERENCE	Chiriac Luiza - Silvia, Dumitru T. Murariu	Institute of Biology Bucharest of Romanian Academy Faculty of Biology, University of Bucharest
OVERCOMPACTION OF THE ARABLE LAYER OF THE SOIL AND ADAPTATION OF AGRICULTURAL CROPS TO ITS MANIFESTATION	Kateryna Romanchuk Svitlana Krylach	National Scientific Center "Institute for Soil Science and Agrochemistry Research named after O.N. Sokolovsky", Kharkiv, Ukraine
HEAT STRESS IMPACT ON IMMUNE RESPONSE IN GOATS	EDWIGA J N DEVAMAILINI B S SILPA M V NAMEER P O SEJIAN V	Kerala agricultural university, Student, College of climate change and environmental science, Thrissur, india

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.****Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.****Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-1, Hall-6****19.03.2023****Moderator: Sementsova Katerina****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 10:00 – 12:00**

Title	Author(s)	Affiliation
HEAT STRESS IMPACT ON THE REPRODUCTIVE PERFORMANCE IN GOATS	ANUPAMA R GAYATHRI B S SILPA M V NAMEER P O SEJIAN V	Kerala Agricultural University, Student, College of Climate Change and Environmental Science, Thrissur, India Rajiv Gandhi Institute of Veterinary Education and Research ,Dean,
LIQUID VIBRATIONS IN CYLINDRICAL AND CONICAL SHELLS WITH AND WITHOUT BAFFLES	Elena Sierikova Elena Strelnikova Yehor Kononenko	National University of Civil Defence of Ukraine, Kharkiv, Ukraine A.M. Podgorny Institute for Mechanical Engineering Problems NAS of Ukraine, Kharkiv, Ukraine
DEFORMATIONS TREATMENT IN LIQUID HYDROCARBON RESERVOIRS	Elena Sierikova Elena Strelnikova Kirill Degtyarev	National University of Civil Defence of Ukraine, Kharkiv, Ukraine A.M. Podgorny Institute for Mechanical Engineering Problems NAS of Ukraine, Kharkiv, Ukraine
IMPLEMENTATION OF PRECISION FARMING MEASURES BASED ON TAKING INTO ACCOUNT THE SPATIAL DISTRIBUTION OF NITROGEN COMPOUNDS IN ARABLE SOILS	Irina Plisko Karina Kutsova	National Scientific Center «Institute for Soil Science and Agrochemistry Research named after O.N. Sokolovsky», Kharkiv, Ukraine
THE ENVIRONMENTAL AND ECONOMIC IMPACTS OF THE USE OF RECYCLED ASPHALT DURING THE PREVENTIVE MAINTENANCE OF ROADWAYS IN THE UAE	Aishah H.O. Al Shehhi, Gul Ahmed Jokhio	The British University in Dubai, United Arab Emirates
CORN RESILIENCE IN THE FACE OF CLIMATE CHANGE: CASE OF SNOPTIC STATIONS IN BENIN	GNIHATIN B. A. DARIUS, AKPO ARISTIDE B.	Université d'Abomey-Calavi, Bénin
IRRIGATION AS A FACTOR OF ECOLOGICAL-AGROMELIORATIVE STATE OF IRRIGATED SOILS	Ludmila Vorotyntseva Roman Panarin	National Scientific Center «Institute for Soil Science and Agrochemistry Research named after O.N. Sokolovsky», laboratory of irrigated soil, Kharkiv, Ukraine.
DATE SYRUP, A REMEDY TO MALNUTRITION	Aymen Naz Eman	Government College University Faisalabad , Applied Sciences, Food science and technology, Faisalabad, Pakistan
ON THE PROBLEMS OF PREPARING RAW MATERIAL AND METROLOGICAL CERTIFICATION OF STANDARD SAMPLES OF SOIL CONTAMINATED WITH HEAVY METAL IMPURITIES	Sementsova Katerina	National Scientific Center "Institute for Soil Science and Agricultural Chemistry, AN name Sokolovsky "

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.****Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.****Kindly keep your cameras on till the end of the session.**



**Session-2, Hall-1****19.03.2023****Moderator: Prof. Dr. Ebru KARADAĞ SARI****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 12:30 – 14:30**

Title	Author(s)	Affiliation
EFFECT OF CAPSAICIN ON MESENCHYMAL STEM CELLS OF ADIPOSE TISSUE	Dr. Ece İNCEBIYIK Prof. Dr. Hatice Erdost	Bursa Uludağ University, Türkiye
INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF DANDELION ( <i>TARAXACUM OFFICINALE</i> ) ON CATALASE RELEASE IN LIVER TISSUE OF DIABETIC RATS	Assist. Prof. Şükran YEDİEL ARAS Prof. Dr. Ebru KARADAĞ SARI	Kafkas University, Türkiye
EXPRESSION OF ADIPOKINES IN GASTROINTESTINAL SYSTEM OF RATS FED WITH CAPSAICIN	Aylin ELARSLAN Tuncay İLHAN	Bursa Uludağ University, Türkiye
PYROPTOSIS and THE MECHANISM OF PYROPTOSIS	Arzu GEZER Ebru Karadağ SARI	Atatürk University, Türkiye
HISTOLOGICAL EFFECT OF THE ADDITION OF ASHOT ( <i>CYMBOCARPUM ANETHOIDES</i> ) AS A FEED ADDITIVE ON LIVER TISSUE IN LAYER QUAILS ( <i>COTURNIX COTURNIX JAPONICA</i> ).	Assoc. Prof. Gökhan NUR Assoc. Prof. Pınar Aksu KILIÇLE Assist. Prof. Mükremin ÖLMEZ Şafak SANDAYUK	İskenderun Teknik University, Türkiye Kafkas University, Türkiye
INVESTIGATION OF ESCHERICHIA COLI O157:H7 PREVALENCE IN CATTLE RAISED IN EDİRNE REGION (TÜRKİYE) BY REAL-TIME PCR	Vet. Hek. Yunus Emre KARATOPAK Prof. Dr. Fatih BÜYÜK	Kafkas University, Türkiye

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.****Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.****Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-2, Hall-2****19.03.2023****Moderator: Assist. Prof. Mert SEZER****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 12:30 – 14:30**

Title	Author(s)	Affiliation
COMPARISON OF BOVINE TUBERCULOSIS FILIATION DATA	Dr. Şahin ÇAKIR Dr. Ediz Kağan ÖZGEN	Tarım ve Orman Bakanlığı, Ankara, Türkiye
COMPARISON OF LIVER AND RENAL FUNCTION TESTS IN MALE AND FEMALE GURCU GOATS	Assist. Prof. Mert SEZER Ress. Assist. Yusuf Umut BATI Ress. Assist. Tahir GEZER Assist. Prof. Enes AKYÜZ	Kafkas University, Türkiye
GENOTOXIC ASSESSMENT OF AMOXICILLIN IN RAINBOW TROUT ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ) BY COMET ASSAY AND MICRONUCLEUS TEST	Assist. Prof. Ceren ANLAS Prof. Dr. Oya USTUNER	Istanbul University- Cerrahpaşa, Istanbul, Türkiye
NASAL ARTERITIS IN A BELGIAN MALINOIS DOG	Assist. Prof. Şükrü DEĞİRMENÇAY Ress. Assist. Emre EREN	Atatürk University, Türkiye
THE EFFECT OF COLOSTRUM QUALITY ON SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS IN CALVES WITH NEONATAL SEPSIS	Assist. Prof. Mert SEZER Assist. Prof. Enes AKYÜZ Assoc. Prof. Mushap KURU	Kafkas University, Türkiye
CRIMEAN CONGO HEMORRHAGIC FEVER AND REPELLENTS USED TO PROTECT AGAINST TICKS	Assist. Prof. Pınar Portakal	Çankırı Karatekin University, Türkiye
A FATAL THREAT TO CATS: FELINE INFECTIOUS PERITONITIS	Büşra TALAN Serkan İrfan KÖSE	Hatay Mustafa Kemal University, Türkiye
INVESTIGATION OF FACTORS AFFECTING COLOSTRUM QUALITY IN HOLSTEIN COWS UNDER STANDARDIZED CONDITIONS	Lect. Mustafa GÜVEN Lect. Dr. Halime KARA	İzmir Bakırçay University, Türkiye Ankara Yıldırım Beyazıt University, Türkiye

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.**

**Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.**

**Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-2, Hall-3****19.03.2023****Moderator: Prof. Dr. Ebubekir CEYLAN****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 12:30 – 14:30**

Title	Author(s)	Affiliation
A CASE AND TREATMENT OF RESISTANT PYOTHORAX IN A CAT	Umut Fikret Korkmaz Dr. Vet. Hek. Duygu KAHRAMAN Assist. Prof. Dr. Mehmet Fatih BOZKURT Prof. Dr. Ebubekir CEYLAN	Ankara University, Türkiye Arbor Vitae Veteriner Kliniği, Ankara, Türkiye
RESTRICTIVE LEFT TO RIGHT PATENT DUCTUS ARTERIOSUS IN A POMERIAN DOG	Hatice Betül ŞAHİN Merve Cansu KILIÇKAYA Büşra Burcu Erol Assoc. Prof. Amir NASERİ	Selcuk University, Türkiye
CAUSES AND DIAGNOSIS OF FEVER IN CAT AND DOGS	Ahmet Batuhan ÖNCEL Şima ŞAHİNDURAN	Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Türkiye
DIALYSIS IN DOGS AND CATS	Ceren KÖKLÜKAYA Prof. Dr. Şima ŞAHİNDURAN	Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Türkiye
WHAT HAPPENED AS A RESULT OF INTRAVENOUS ADMINISTRATION OF ORAL MELOXICAM SUSPENSION IN A CAT?	Assist. Prof. Osman Safa TERZİ Doktora Öğr. Refet Erand ERATAM Enes Arda ARSLAN	Ankara University, Türkiye
THE EFFECTS OF STEM CELL USE ON PROGNOSIS IN PATIENTS WITH CHRONIC RENAL FAILURE IN CATS: A CASE REPORT	Assist. Prof. Osman Safa TERZİ Uzm. Dr. Akife KAYA	Ankara University, Türkiye
SEPSIS, SEPSIS BIOMARKERS AND CYTOKINES IN CALVES	Lect. Ali Burak DÖRTKARDEŞ Prof. Dr. Şima ŞAHİNDURAN	Mehmet Akif Ersoy University, Türkiye
ECHOCARDIOGRAPHIC EVALUATION OF PULMONARY HYPERTENSION AND ISOLATED RIGHT-SIDED CONGESTIVE HEART FAILURE IN A MIX-BREED DOG	Assist. Prof. Merve IDER	Selcuk University, Türkiye

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.**

**Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.**

**Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-2, Hall-4****19.03.2023****Moderator: Dr.R.Srinivasan****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 12:30 – 14:30**

Title	Author(s)	Affiliation
POWDERED POLYHERBAL ANTI-DANDRUFF SHAMPOO: FORMULATION, CHARACTERIZATION, AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY	R.Jothi lakshmi, R.Devi, Dr.R.Srinivasan, M.Vasanth Kumar	Bharath institute of higher education and research. Chennai.
BIOETHANOL PRODUCTION AND USE OF DISTILLERS'S WET GRAINS AS DAIRY COWS' FEED	Srdan B. Segić , Gordana B. Mauna	University of Belgrade, Belgrade
BaHPO <sub>4</sub> DEPOSITED ON DIFFERENT SUBSTRATES FOR THE ELECTRO-DEGRADATION OF RHODAMINE B	A.AHDOUR, A.TAOUFYQ, L.ANEFLOUS, A.BENLHACHEMI, B.BAKIZ	Ibn Zohr university faculty of science, Department of chemistry, Agadir, Morocco.
HIGHLY EFFICIENT SUN-LIGHT-ACTIVE CN/ BIC/SW NANOCOMPOSITES FOR PHOTOCATALYTIC DEGRADATIONS OF DYES	Brahim Ennasraoui, Hamza Ighnih, Mohamed Rhaya, Redouane Haounati, Hassan Ouachtak, Naima Hafid, Amane Jada, Abdelaziz Ait Addi	Ibn Zohr University, Agadir, Morocco. Centre Régional des Métiers de l'Education et de la Formation Souss Massa, Morocco Université de Haute Alsace (UHA), F-68100 Mulhouse, France
EFFECT OF SPECIFIC SURFACE FOR REMOVAL OF METHYLENE BLUE DYE USING TWO TYPE OF NATURAL SAND BEFORE AND AFTER GRINDING	SAID ET-TALEB	Ibnou Zohr University, Faculty of Applied Sciences, Ait Melloul, Morocco
TRANSMISSION COEFFICIENT AND THE INTERSUBBAND TRANSITIONS IN ZNO/ [MG] _X [ZN] _(1-X) O UNSTRESSED QUANTUM WELL HETEROSTRUCTURES	Lhoucine MOUDOU, Mohamed AL-HATTAB, Khalid RAHMANI, Ibrahim MAOUHOUBI, Jamal GUERROUM	Sultan Moulay Slimane University, Béni Mellal - Morocco. Mohammed V university in Rabat, Morocco
SYNTHESIS, DESCRIPTION, TOXICITY, ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGAL ESTIMATION OF SCHIFF-BASE OF DRUG SUBSTANCE	Rehab K. Al-Shemary	University of Baghdad, Iraq
SYNTHESIS, CHARACTERIZATION, BIOLOGICAL ACTIVITY AND DNA BINDING OF PYRIDAZINE CONTAINING IMIDAZOLIDINE MOIETY	Rehab Kadhim Raheem Alshemary	University of Baghdad, Baghdad, Ira
CRYSTAL STRUCTURE AND ELECTRONIC STRUCTURE OF QUATERNARY SEMICONDUCTORS Cu <sub>2</sub> ZnTiSe <sub>4</sub> AND Cu <sub>2</sub> ZnTiS <sub>4</sub> FOR SOLAR CELL ABSORBER	Guerroum Jamal, Youssef Lachtioui, Bajjou Omar, Al-Hattab Mohamed, Moudou Lhoucine	Sultan Moulay Slimane University - Department of Physics PhD béni-mellal Morocco

All participants must join the conference 10 minutes before the session time.

Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.

Kindly keep your cameras on till the end of the session.

**Session-2, Hall-5****19.03.2023****Moderator: Matloob Ahmad****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 12:30 – 14:30**

Title	Author(s)	Affiliation
QUATERNARY SALTS: SYNTHESIS AND ENZYME INHIBITION STUDIES	Matloob Ahmad, Tooba Jabeen, Imran Ahmad Khan	Department of Chemistry, Government College University, Faisalabad, Pakistan
CONSTRUCTED WETLANDS COUPLED WITH TUBESETTLER AND AERATION FOR HOSPITAL WASTEWATER TREATMENT	Zeba Ali Mumtaj, Abdul Rahman Khan, Saimah Khan	Integral University, Lucknow
STUDIED THE EFFECT OF COW URINE AS A NUTRIENT ON THE GROWTH OF SPIRULINA MAXIMA IN INDOOR CULTURE	Ankit Chaudhari Kapila Manoj Vikranti Patel	Veer Narmad South Gujarat University, India
RELATIVISTIC ELASTIC SCATTERING OF HYDROGEN ATOM (2S-2S) BY ELECTRON IMPACT IN THE PRESENCE OF A LINEARLY POLARIZED LASER FIELD	Mouloud ABARAGH, El mostafa HROUR, Moha EL IDRIS, Souad Taj, Bouzid MANAUT	Polydisciplinary Faculty, Laboratory of Research in Physics and Engineering Sciences Sultan Moulay Slimane University, Superior School of Technology of Beni Mellal Research Team in Theoretical Physics and Materials (RTTPM)
THIAZINES: SYNTHESIS AND ANTIVIRAL ACTIVITY	Matloob Ahmad, Ayesha Rafiq	Government College University, Faisalabad, Pakistan
CHITOSAN/STARCH-DOPED $MNO_2$ NANO COMPOSITE SERVED AS DYE DEGRADATION, BACTERIAL ACTIVITY, AND IN SILICO MOLECULAR DOCKING STUDY (PUBLISHED IN MATERIALS TODAY NANO IN 2022)	Anum Shazadi Iram Shahzadi	Faculty of Pharmacy, The University of Lahore, Lahore, Pakistan Punjab University College of Pharmacy, University of the Punjab, Lahore, Pakistan.
DIESEL ENGINE EMITTED CARBON MONOXIDE EMISSIONS FOR COMPLETE OXIDATION USING HOPCALITE CATALYSTS AND ITS APPLICATIONS: A REVIEW	Subhashish Dey	Seshadri Rao Gudlavalleru Engineering College, Gudlavalleru, A.P. India
REVIEW OF THE MECHANICAL CHARACTERISTICS OF NATURAL FIBER REINFORCED EPOXY COMPOSITES	Ahmed Umar, Ibrahim Sada, Abubakar Sani	Umaru Musa Yaradua University

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.**

**Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.**

**Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-2, Hall-6****19.03.2023****Moderator: Dr. Harminder Singh****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 12:30 – 14:30**

Title	Author(s)	Affiliation
PATHOLOGICAL AND FUNCTIONAL ASPECTS OF MULTIORGAN FAILURE IN ALCOHOL USE DISORDER	R. THIRUCHELVI Dr. P.Brindha Devi	Vels Institute of Science Technology and Advanced Studies (VISTAS), India
COMPARATIVE STUDY OF CROSS- AND UNCROSS-LINKED ARABINOXYLANS EXTRACTED FROM MAIZE BRAN	Muhammad Ahtisham Raza, Farhan Saeed, Muhammad Afzaal, Bushra Niaz, Muzzamal Hussain, Amara Rasheed, Ali Imran	Government College University Faisalabad, Pakistan
ELECTRICAL ENERGY GENERATION FROM AGRICULTURE WASTE	Dr. Harminder Singh Dr. Anu Sheetal	Department of Mechanical Engineering, Guru Nanak Dev University, Amritsar, Punjab, INDIA
DEVELOPMENT OF AN INTELLIGENT IRRIGATION CONTROL AND REAL-TIME MONITORING HUB	Felix Michael Oguche, Zsolt Zoltán Fehér	University of Debrecen, Institute of Water and Environmental Management, Debrecen, Hungary
FACTORS AFFECTING AGRITOURISM PARTICIPATION BY FARMER HOUSEHOLDS IN CAN THO CITY, VIETNAM	Thi-Hoang-Anh TRAN	Can-Tho University, Can-Tho City, Vietnam
DIAGNOSTICS OF THE EROSION STATE OF ARVABLE LANDS USING DRONE AND VERIFICATION WITH DATA ON THE GRANULOMETRIK COMPOSITION OF THE SOIL	Maksym Solokha Nadiya Vynokurova	National Scientific Center „Institute for Soil Science and Agrochemistry Research named after O.N. Sokolovsky”, Ukraine
DEVELOPING EFFICIENT ENVIRONMENTALLY FRIENDLY BIOFERTILIZERS	Konul Gahramanova Aygün Almammodova Sabiya Osmanova	<sup>1</sup> Institute of Additives of Chemistry named after acad. A.M.Kuliev, Baku, Azerbaijan

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.**

**Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.**

**Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-3, Hall-1****19.03.2023****Moderator: Assist. Prof. Gül Esma AKDOĞAN****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 15:00 – 17:00**

Title	Author(s)	Affiliation
TAXONOMIC REINVESTIGATION OF ENDEMIC PLANT SPECIES FROM KARS PROVINCE VIA PHYLOGENETIC ANALYSIS	Asiye ULUĞ Funda Özdemir DEĞİRMENCİ Gül Esma AKDOĞAN	Kafkas University, Ahi Evran University, Department of Crop Science, Kırşehir
INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF USING BIOCHAR AGAINST IRRIGATION WATER SALINITY ON SOME YIELD-RELATED PHYSICAL PROPERTIES OF RADISH ( <i>RAPHANUS SATIVUS</i> L.)	Elif YAGANOGLU Caner YERLİ	Atatürk Üniversitesi, Erzurum, Türkiye Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van, Türkiye
DETERMINATION OF SUITABLE MOWING TIME FOR HERBAGE YIELD AND QUALITY IN HUNGARIAN VETCH ( <i>VICIA PANNONICA</i> CRANTZ)	Dr.Ziya MUTLU Assoc. Prof. Sabahaddin ÜNAL Berna EFE	Tarla Bitkileri Merkez Araş. Ens İzzet Baysal University, Türkiye
ELUCIDATING THE INHERITANCE PATTERN OF SOME PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS IN SOYBEAN ( <i>GLYCINE MAX</i> L.) UNDER HEAT STRESS	Dr. Volkan Mehmet ÇINAR Prof. Dr. Aydın ÜNAY	Aydın Adnan Menderes University, Türkiye
ESSENTIAL OIL COMPONENTS OF <i>TEUCRIUM CHAMAEDRYS</i> L. SUBSP. <i>CHAMAEDRYS</i> AND <i>TEUCRIUM DIVARICATUM</i> SIEBER SUBSP. <i>DİVARİCATUM</i> SIEBER GROWING NATURALLY IN TÜRKİYE	Lect. Tuğba ÇAKIR Assist. Prof. Ömer ÇEÇEN Assist. Prof. Hasan MARAL	Karamanoğlu Mehmetbey University, Türkiye.
POSSIBILITIES OF BIOLOGICAL CONTROL ON SESAME MOTH <i>Antigastra catalaunalis</i> DUP. (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE) AND TOBACCO WHITEFLY <i>Bemisia tabaci</i> (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) IN ANTALYA SESAME FIELDS	Hasan PART Prof. Dr. İsmail KARACA	Isparta Uygulamalı Bilimler University, Türkiye
DETERMINATION OF THE EFFECTS OF GIBBERELIC ACID CONCENTRATIONS ON GERMINATION AND EMERGENCE PERFORMANCE OF SOME FLAX ( <i>Linum usitatissimum</i> L.) VARIETIES	Prof. Dr. Sema BAŞBAĞ Şilan ÇİÇEK Lect. Nazlı AYBAR YALINKILIÇ	Dicle University, Türkiye Muş Alparslan University, Türkiye

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.****Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.****Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-3, Hall-2****19.03.2023****Moderator: Assist. Prof. Neslihan ÖLMEZ****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 15:00 – 17:00**

Title	Author(s)	Affiliation
THE RELATIONSHIP BETWEEN NITROGEN FERTILIZATION AND FUNGAL DISEASES IN WHEAT PLANT	Süreyya Betül RUFAYIOĞLU Berfin KILINÇ Muhammed Oday TALİP	Harran University, Türkiye
EFFECT OF SOME METAL IONS ON CULTURE MUSHROOM POLYPHENOL OXIDASE ENZYME	Dr. Cansu ÖZTÜRK	Atatürk University, Türkiye
RESPONSE OF DRY MATTER ACCUMULATION, YIELD AND BREAD-MAKING QUALITY OF BREAD WHEAT TO ORGANIC AND INORGANIC FERTILIZATION	Assist. Prof. Ali YIĞİT	Aydın Adnan Menderes University, Türkiye
EFFECT OF SILICONE APPLICATION ON MACRO AND MICRO ELEMENTS OF WHEAT ( <i>Triticum aestivum</i> L. Ceyhan-99) GROWN UNDER SALT STRESS	Dr. Hakan GÜNEŞ Assist. Prof. Emel DIRAZ YILDIRIM	Kahramanmaraş Sütçü İmam University, Türkiye
NUT CHARACTERISTICS OF SOME HAZELNUT VARIETIES AND GENOTYPES IN NORTHWEST AZERBAIJAN	Ashı ERDOĞDU Ashı GÜL Assist. Prof. Burak AKYÜZ Prof. Dr. Ümit SERDAR Fagan AGHAYEV	Ondokuz Mayıs University, Türkiye Azerbaycan Devlet Tarım Üniversitesi, Azerbaycan
SYNTHESIS OF POLYCARBOXYLIC ACID DERIVATIVE CHEATING AGENTS AND INVESTIGATION OF THEIR USAGE IN PLANT NUTRITION	Dr. Dilek ÜNLÜER BİRİNCİ	Karadeniz Teknik University, Türkiye Sakarya University, Türkiye
DETERMINING THE PHYSICAL PROPERTIES OF SOME GREENFIELD PLANTS	Assist. Prof. Zeynep DUMANOĞLU Prof. Dr. Kağan KÖKTEN Lect. Selim ÖZDEMİR	Bingöl University, Türkiye Sivas Teknoloji University, Türkiye
APPLICATIONS FOR ETHNOVETERINARY USES OF PLANTS FROM THE ASTERACEAE FAMILY	Ress. Assist. Ebru Kuruldak Dr. Seçil Karahüseyin	İstanbul University, Türkiye Çukurova University, Türkiye

All participants must join the conference 10 minutes before the session time.

Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.

Kindly keep your cameras on till the end of the session.



**Session-3, Hall-3****19.03.2023****Moderator: Assoc. Prof. Çağdaş AKPINAR****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 15:00 – 17:00**

Title	Author(s)	Affiliation
THE AGRICULTURE IN UZBEKISTAN AT THE FIRST HALF OF XIX <sup>TH</sup> CENTURY	Prof. Dr. Nisbet Mehdiyeva	Baku State University Azerbaijan
THE IMPORTANCE OF EXPERIENCE OF NETHERLANDS IN DEVELOPMENT OF AGRICULTURE (ON THE BASE OF EXAMPLE OF XV – XVII <sup>TH</sup> CENTURIES)	Ayten MEHDIYEVA	Azerbaijan State Pedagogical University, Baku, Azerbaijan
INVESTIGATION OF CAUSAL AGENTS OF DISEASES IN KIWI FRUIT ORCHARDS OF MIDDLE BLACK SEA REGION OF TURKIYE	Ümit ESER Sevilay SAYGI Demet ÇELİK ERTEKİN Abdullah BALTAÇI İlyas DELİGÖZ	Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü, Samsun, Türkiye
THE DETERMINATION OF EFFICIENCY OF DIFFERENT SPRAYING PROGRAMS AGAINST POWDERY MILDEW (Erysiphe necator Schw.) IN VINEYARD IN THE BLACK SEA REGION	Ümit ESER Abdullah BALTAÇI	Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Samsun, Türkiye
CLUSTERING OF CITIES IN TÜRKİYE BASED ON AGRICULTURE AND LIVESTOCK INDICATORS	Hakan SERİN Assist. Prof. Muslu Kazım KÖREZ Prof. Dr. Mehmet Emin TEKİN	Selçuk University, Türkiye
RISK FACTORS RELATED TO WHEAT CULTIVATION	Gözde Hafize YILDIRIM Nuri YILMAZ	Ordu University, Türkiye
EFFECTS OF DIFFERENT SYNTHETIC AND ORGANIC FERTILIZER APPLICATIONS ON SOME YIELD AND QUALITY CHARACTERISTICS OF SILAGE CORN (ZEA MAYS)	Gözde Hafize YILDIRIM Nuri YILMAZ Ayşe Özge Şimşek Soysal	Ordu University, Türkiye
PREPARATION OF CHELATING COMPOUNDS INCLUDING METAL AS MICRONUTRIENT FERTILIZER, MEASUREMENT OF THEIR BIOLOGICAL ACTIVITIES, AND INVESTIGATION OF THEIR USAGE IN AGRICULTURE	Selda DURMUŞOĞLU Ertuğ YILDIRIM Sümeyye ÇAKMAK	Karadeniz Teknik University, Türkiye Sakarya University, Türkiye
SEASONAL CHANGES IN NUTRITIONAL STATUS OF CONVENTIONAL AND ORGANIC APPLE ORCHARD	Assoc. Prof. Çağdaş AKPINAR	Osmaniye Korkut Ata University, Türkiye

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.****Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.****Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-3, Hall-4****19.03.2023****Moderator: Dr. Muhammad Ikram****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 15:00 – 17:00**

Title	Author(s)	Affiliation
BIOAUGMENTATION AND BIOSTIMULATION OF CRUDE OIL CONTAMINATED SOIL: PROCESS PARAMETERS INFLUENCE	Lekan Taofeek Popoola, Adeyinka Sikiru Yusuff, Abel Adekanmi Adeyi, Oluwagbenga Olawale Omotara	Afe Babalola University, Ado-Ekiti, Ekiti State, Nigeria
RECYCLING OF WASTE AND GARBAGE IS THE MAIN DIRECTION OF ECOLOGY IN THE FIGHT FOR THE CLEANLINESS OF THE PLANET	Aygun Almamedova Konul Kahramanova Tarana Ibragimova	Institute of Additive Chemistry named after A. Guliyev, Baku, Azerbaijan
IDENTIFYING, CLASSIFYING, AND PRIORITIZING ITEMS AFFECTING THE CONTAGION OF BIOLOGICAL AGENTS AMONG HOSPITAL PERSONNEL	Amir Hossein Khoshakhlagh, Saeid Yazdanirad	Kashan University of Medical Sciences, Iran Shahrekord University of Medical Sciences, Iran
CNC/GO-doped TiO <sub>2</sub> QUANTUM DOTS AS DYE DEGRADER	Dr. Muhammad Ikram	GC University Lahore, Pakistan.
THE GASTROANOMY DILEMMA IN CONTEMPORARY SOCIETY FROM THE PERSPECTIVE OF THE IMPLICATIONS ON CONSUMER HEALTH AND ON THE ECONOMY	Ana Cardoso Lopes Lyssandro Norton Siqueira Maraluce Maria Custodio	Escola Superior Dom Helder Câmara/Minas Gerais/Brasil
HIGH PERMITTIVITY FOR STORAGE APPLICATION	Adil Chakir, Boubker Mehdaoui, Abdeslam El Bouari	Hassan II University of Casablanca, Faculty of Sciences Ben M'SiCk
DIVERSITY OF SPIDER FAUNA IN THE AREA OF JAGODINA (SERBIA)	Boban Stanković	City of Jagodina, Department of Environmental Protection, Serbia

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.**

**Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.**

**Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-3, Hall-5****19.03.2023****Moderator: Pr. Soraya Sedkaoui****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 15:00 – 17:00**

Title	Author(s)	Affiliation
NUMERICAL ANALYSIS OF STATISTICALLY PREDICTED RATE CONSTANTS FOR PYROLYSIS OF HIGH-DENSITY POLYETHYLENE USING MULTIPLE LINEAR REGRESSION MODEL IN R SOFTWARE	Rao Adeel Un Nabi, Muhammad Yasin Naz, Shazia Shukrullah, Abdul Ghaffar	University of Agriculture Faisalabad, 38040, Pakistan
APPLYING MACHINE LEARNING ALGORITHMS TO ADVANCE MODERN AGRICULTURE	Pr. Soraya Sedkaoui Pr. Khalida Mohammed Belkebir Dr. Rafika Benaichouba	University of Khemis Miliana, Algeria
SYNTHESIS OF NICKEL OXIDE/GRAPHENE OXIDE COMPOSITE FOR THE DEGRADATION OF CLOTHIANIDIN PESTICIDE	Atta ul Haq, Hafiz Muhammad Abubakar	Government College University Faisalabad, Pakistan
EFFECT OF DOSE OF MINERAL FERTILIZERS ON HYBRIDS SUNFLOWER PRODUCTIVITY IN NON-IRRIGATED CONDITIONS OF SOUTHERN UKRAINE	Assoc. Prof. Andrey Shepel	Kherson State Agrarian and Economic University, Department of Agriculture, Ukraine
ENVIRONMENTAL CLEAN-UP PROJECTS IN NIGERIA: A WILLINGNESS-TO-ACCEPT EXPERIMENT ON FARMING COMMUNITIES IN SOUTHERN NIGERIA	Mohammed K. Ibrahim, Inibehe George Ukpong	Kogi State College of Education, Nigeria. School of Agricultural Technology, Federal Polytechnic, Nigeria
SPATIO-TEMPORAL ANALYSIS OF LICHENS AS BIO-INDICATORS OF SO <sub>2</sub> POLLUTION IN THE ANNABA REGION, ALGERIA	Naila MAIZI Thiziri IDIR Amel BERREBBAH ALIOUA	University Akli Mohand Oulhadj, Algeria University of Science and Technology (USTHB) Houari Boumediene, Algeria
THE ROLE OF DEMOGRAPHIC FACTORS ON COMMUNITY AVAILABILITY AS SERVICE PROVIDERS IN THE MANGROVE TOURISM AREA PETENGORAN, TELUK PANDAN, PESAWARAN, LAMPUNG	Dita Hydayah Hari Kaskoyo Samsul Bakri Rahmat Safe'i	Lampung University, Faculty of Agriculture, Dapartement of Forestry, Bandar Lampung
CHANGE IN THE ACTIVE SUBSTANCE CONTENT OF SHIITAKE MUSHROOM ( <i>LENTINULA EDODES</i> ) AS AFFECTED BY SOUS VIDE TECHNOLOGY	Peter Hajdú, Gréta Törös, Xhensila Llanaj, Dr. József Prokisch	University of Debrecen, Faculty of Agricultural and Food Sciences and Environmental Management, Institute of Animal Science, Biotechnology and Nature, Department of Animal Husbandry, Debrecen, Hungary
PROSPECTIVE AGRICULTURAL CROPS IN CLIMATE-ORIENTED AGRICULTURE OF UKRAINE	Oleksandr AVERCHEV Maria NIKITENKO	Kherson State Agrarian and Economic University
APPLE: HISTORY, CULTIVATION, HUMAN HEALTH AND FUTURE PERSPECTIVE	Asst. Prof. Gülçe İLHAN Prof. Dr. Sezai ERCİŞLİ	Ataturk University Agricultural Faculty Department of Horticulture, 25240 Erzurum-Türkiye

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.****Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.****Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

**Session-3, Hall-6****19.03.2023****Moderator: Moses Adeolu AGOI****Meeting ID: 842 7974 2853 / Passcode: 171819****Ankara Local Time: 15:00 – 17:00**

Title	Author(s)	Affiliation
ROLE OF ARTIFICIAL INSEMINATION IN POULTRY	Berhanu Bekele, Wondmeneh Esatu, Taddelle Dessie	Wachemo University, Ethiopia International Livestock Research Institute, Addis Ababa, Ethiopia
EVALUATION OF ARTIFICIAL INSEMINATION EFFICIENCY AND OESTRUS SYNCHRONIZATION IN DAIRY CATTLE: - A REVIEW	Berhanu Bekele, Abdilgefar Kemal, Dilgeba Aman	Wachemo University, Hossana, Ethiopia
THE SIGNIFICANCE OF INTRODUCING TASKS FROM THE FIELD OF INTERNAL AUDIT IN THE CONTEXT OF IMPROVING THE ANALYSIS OF THE FUNCTIONING OF AGRICULTURAL ENTERPRISES ON THE EXAMPLE OF THE REPUBLIC OF SERBIA	Ognjen Bakmaz Biljana Bjelica Jelena Vitomir	High School of Service Business East Sarajevo - Sokolac, Cara Lazara, 71350, Sokolac, Bosnia & Herzegovina Megatrend University, Bulevar Mihajla Pupina 117, 11070 Novi Belgrade, Republic of Serbia
REALISTIC TOP MANAGEMENT REPORTING THROUGH THE DISPLAY OF FINANCIAL REPORTING	Ognjen Bakmaz Biljana Bjelica Jelena Vitomir	High School of Service Business East Sarajevo - Sokolac, Cara Lazara, 71350, Sokolac, Bosnia & Herzegovina Megatrend University, Bulevar Mihajla Pupina 117, 11070 Novi Belgrade, Republic of Serbia
APPAREL DESIGN PERSPECTIVES FOR FARM ANIMALS	Maria Khoteeva Ptof. Varvara Getmantseva	The Kosygin State University of Russia, Moscow, Russia
STUDY ON GERMINATION AND SEEDLING GROWTH OF TWO CANOLA CULTIVARS AS AFFECTED BY CADMIUM AND COPPER SULFATE	Seyyed Hamid Reza Ramazani, Mehdi Kargar	University of Birjand, Birjand, Iran.
PHOTOCATALYTIC AND BACTERICIDAL PROPERTIES AND MOLECULAR DOCKING ANALYSIS OF TiO <sub>2</sub> NANOPARTICLES CONJUGATED WITH ZR FOR ENVIRONMENTAL REMEDIATION	A. Haider	Muhammad Nawaz Shareef University of Agriculture, Multan, 66000, Punjab, Pakistan
ASSESSING THE EFFICACY OF IOT (INTERNET OF THINGS) AND ITS APPLICATION IN AGRICULTURE	Moses Adeolu AGOI Oluwadamilola Peace AGOI	Lagos State University of Education, Lagos Nigeria. Federal University of Agriculture Abeokuta, Ogun Nigeria.
DEVELOPMENT OF A STOCHASTIC WORKFLOW FOR CONTROLLING PRECISION IRRIGATION UNDER UNCERTAINTY	Angura Louis, Zsolt Zoltán Fehér, Tamás János, Nikolett Szóllósi, Dhimas Sigit Bimantara, Attila Nagy	University of Debrecen, Faculty of Agriculture food sciences and Environmental Management, Debrecen, Hungary
SPATIOTEMPORAL ANALYSIS OF THE SOIL PARAMETERS ON THE SPECTRAL REFLECTANCE OF THE MAIZE AT DIFFERENT PHENOLOGICAL PHASES USING MACHINE LEARNING	Dhimas Sigit Bimantara, Zsolt Zoltán Fehér, Angura Louis, Attila Nagy, János Tamás	University of Debrecen, Faculty of Agriculture food sciences and Environmental Management, Debrecen, Hungary

**All participants must join the conference 10 minutes before the session time.****Every presentation should last not longer than 10-12 minutes.****Kindly keep your cameras on till the end of the session.**

## CONTENT

CONGRESS ID	1
SCIENTIFIC COMMITTEE	2
PHOTO GALLERY	3
PROGRAM	4
CONTENT	5

### *PROCEEDINGS BOOK (Volume-1)*

<b>Kave KOOREHPAZ</b> <i>TREATMENT PROTOCOLS OF BENIGN PROSTATIC HYPERPLASIA IN MALE DOGS</i>	1
<b>Murat GÜLMEZ &amp; Kübranınur YILDIZ BAYHAN, Sefa ÜNER</b> <i>EFFECTS OF PASTEURIZED SHEEP'S MILK USE ON PRODUCTION AND MATURATION OF SIIRT HERBY CHEESE</i>	6
<b>Elif YAGANOGLU &amp; Caner YERLI</b> <i>INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF USING BIOCHAR AGAINST IRRIGATION WATER SALINITY ON SOME YIELD-RELATED PHYSICAL PROPERTIES OF RADISH (RAPHANUS SATIVUS L.)</i>	22
<b>Emine Mine ÇOMAK GÖÇER &amp; Firuze Ergin ZEREN</b> <i>DETECTION OF THE SUSCEPTIBILITY OF PROBIOTIC BACTERIA TO ANTIBIOTICS BY E-TEST METHOD</i>	30
<b>Fatih BÜYÜKBUDAK &amp; Murat FINDIK</b> <i>THE USE OF MELATONIN FOR BREEDING CONTROL IN QUEENS</i>	33
<b>Fatih BÜYÜKBUDAK &amp; Murat FINDIK</b> <i>OESTRUS MANAGEMENT IN BUFFALOES</i>	42
<b>İpek İNAN &amp; Murat FINDIK</b> <i>CLINICAL APPROACH TO MAMMARY HYPERPLASIA IN CATS</i>	53
<b>İpek İNAN &amp; Murat FINDIK</b> <i>CARE AND FEEDING IN CAT AND DOG NEONATES</i>	59
<b>Onur TAŞ</b> <i>FOODBORNE BACTERIAL ZOOSES IN ONE HEALTH APPROACH</i>	65
<b>Ayşe UYSAL, Ekrem LAÇİN, Fatih YILDIRIM &amp; Murat GENÇ, Uğur ÖZENTÜRK</b> <i>WHY DOES FOOTPAD DERMATY OCCUR IN BROILER CHICKENS?</i>	89
<b>Ayşe UYSAL, Ekrem LAÇİN, Şermin TOP &amp; Emre YILMAZ, Soner UYSAL</b> <i>IS IT IMPORTANT TO USE MATTRESS IN SHEEP?</i>	96
<b>Ana Cláudia Cardoso Lopes &amp; Maraluce Maria Custódio, Lyssandro Norton Siqueira</b> <i>THE GASTROANOMY DILEMMA IN CONTEMPORARY SOCIETY FROM THE PERSPECTIVE OF THE IMPLICATIONS ON CONSUMERS HEALTH AND ON THE ECONOMY</i>	102
<b>Victoria Stanislavivna Sydorenko</b> <i>FEATURES OF LIGULOSIS RUTILUS RUTILUS AND ABRAMIS BRAMA IN THE DNIPRO RESERVOIR</i>	113

<b>Cagdas AKPINAR</b> <b>SEASONAL CHANGES IN NUTRITIONAL STATUS OF CONVENTIONAL AND ORGANIC APPLE ORCHARD</b>	<b>116</b>
<b>Gülseren KIRBAŞ DOĞAN &amp; İftar GÜRBÜZ, Yasin DEMİRASLAN</b> <b>MACROANATOMIC AND MORPOMETRIC INVESTIGATION OF THE BROWN BEAR HUMERUS</b>	<b>122</b>
<b>Ceren ANLAS &amp; Oya USTUNER</b> <b>GENOTOXIC ASSESSMENT OF AMOXICILLIN IN RAINBOW TROUT (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) BY COMET ASSAY AND MICRONUCLEUS TEST</b>	<b>127</b>
<b>Hülya YAMAN</b> <b>THE RISING TREND OF PLANT-BASED MILK AND BY COMPARISON WITH ANIMAL SOURCES OF MILK</b>	<b>132</b>
<b>Neslihan AYAĞ &amp; Sümeyra IŞIK, Elif DAĞDEMİR</b> <b>PSYCHOBOTICS IN FERMENTED FOODS</b>	<b>140</b>
<b>Volkan Mehmet ÇINAR &amp; Aydın ÜNAY</b> <b>CHARACTERISTICS IN SOYBEAN (<i>Glycine max L.</i>) UNDER HEAT STRESS</b>	<b>147</b>
<b>Nurdan COŞKUN ÇETİN &amp; Fikret KARACA</b> <b>THE EFFECT OF CLINOPTILOLITE ADDED TO THE EXTENDER IN COOLED DOG SPERM ON SEMEN QUALITY</b>	<b>160</b>
<b>Banur BOYNUKARA, Timur GÜLHAN &amp; Senem ÖZTÜRK KÖSE, Ahsen Kubilay ALBAYRAK</b> <b>ISOLATION OF MUCOR PIRIFORMIS, RHIZOPUS STOLONIFER AND FUSARIUM SPP. FROM COCKATIEL</b>	<b>166</b>
<b>Emine NAKİLCİOĞLU &amp; Ceyda DADALI</b> <b>THE NUTRITIVE VALUE AND HEALTH BENEFITS OF TIGERNUT (<i>Cyperus esculentus L.</i>)</b>	<b>176</b>
<b>Ceyda DADALI &amp; Emine NAKİLCİOĞLU</b> <b>COLD BREW COFFEE: CHEMICAL AND SENSORY PROPERTIES</b>	<b>180</b>
<b>Eser ÇAKMAKÇI, Ahmet GÜRSEL, Ahmet Ege ERDOĞAN &amp; Gencer ÇELİK, Ali BELGE</b> <b>PARTIAL AMPUTATION OF FORELIMB AND PROSTHETIC LEG APPLICATION IN A HOLSTEIN CALF</b>	<b>185</b>
<b>Eser ÇAKMAKÇI, Gaye DEĞİRMENCİ &amp; Songül ERDOĞAN, Ali BELGE</b> <b>A CASE OF UVEODERMATOLOGICAL SYNDROME IN A HUSKY DOG: A CLINICAL REPORT</b>	<b>192</b>
<b>Eser ÇAKMAKÇI, Ceyda ÇAKAR, Fatma YİĞİT GÖK &amp; Gaye DEĞİRMENCİ, Ali BELGE</b> <b>CASE OF KERATOMALACIA IN A CHINCHILLA BREED CAT AND ITS MEDICAL TREATMENT</b>	<b>200</b>
<b>Nisbet MEHDİYEVA</b> <b>THE AGRICULTURE IN UZBEKISTAN AT THE FIRST HALF OF XIXTH CENTURY</b>	<b>206</b>
<b>Fatma İŞBİLİR</b> <b>MACROSCOPIC and MICROSCOPIC INVESTIGATION OF CANALIS ALIMENTARIUS in ABYSSİNİAN MONKEY (<i>PAPIO HAMADRYAS</i>)</b>	<b>211</b>
<b>Naciye Selinay GÜN, Zehra ALBAY &amp; Bedia ŞİMŞEK</b> <b>THE EFFECT OF POPPY PULP ON SOME TEXTURAL AND SENSORY PROPERTIES OF PROBIOTIC WHITE CHEESE TELEME</b>	<b>220</b>
<b>Aykut ULUCAN, Seda YAKUT &amp; Adem KARA</b> <b>INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF EXPERIMENTALLY ADMINISTERED FAVIPIRAVİR (T-705) ON HEART TISSUE HISTOLOGY IN</b>	<b>226</b>

<b>RATS</b>	
<b>Aykut ULUCAN</b> <i>PATHOMORPHOLOGIC AND IMMUNOHISTOCHEMICAL INVESTIGATION OF SPLEEN TISSUE IN EXPERIMENTAL AA AMYLOIDOSIS MODEL IN MICE</i>	<b>233</b>
<b>Nurdan ARSLANKOZ İŞLEYEN &amp; Muhammet Fatih İŞLEYEN</b> <i>PROBIOTICS AND MICROENCAPSULATION APPLICATIONS</i>	<b>249</b>
<b>Tuğba ÇAKIR, Ömer ÇECEN &amp; Hasan MARAL</b> <i>ESSENTIAL OIL COMPONENTS OF TEUCRIUM CHAMAEDRYS L. SUBSP. CHAMAEDRYS AND TEUCRIUM DIVARICATUM SIEBER SUBSP. DIVARICATUM SIEBER GROWING NATURALLY IN TURKIYE</i>	<b>255</b>
<b>Tuba AYDIN, Adnan ŞEHU &amp; Ali ÇALIK, Mehmet Ali KANAT</b> <i>THE EFFECT OF DIETS WITH HIGH PROTEIN LEVEL AND QUALITY ON SCORPION SERUM PRODUCTION PERFORMANCE IN SERUM HORSES</i>	<b>261</b>
<b>Mert SEZER, Enes AKYÜZ &amp; Mushap KURU</b> <i>THE EFFECT OF COLOSTRUM QUALITY ON SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS IN CALVES WITH NEONATAL SEPSIS</i>	<b>271</b>
<b>Pınar PORTAKAL</b> <i>CRIMEAN CONGO HEMORRHAGIC FEVER AND REPELLENTS USED TO PROTECT AGAINST TICKS</i>	<b>279</b>
<b>Soraya Sedkaoui &amp; Khalida Mohammed Belkebir, Rafika Benaichouba</b> <i>APPLYING MACHINE LEARNING ALGORITHMS TO ADVANCE MODERN AGRICULTURE</i>	<b>285</b>
<b>Plamen GLOGOV</b> <i>DISTRIBUTION ROUTES OF THE INVASIVE ALIEN SPECIES I. GLANDULIFERA ROYLE IN THE ISKAR RIVER GORGE BETWEEN PLANA AND LOZENSKA MOUNTAINS (SOUTHWESTERN BULGARIA)</i>	<b>293</b>
<b>Anila L. &amp; M S Hashim</b> <i>ROLE OF POLYPHENOLIC RICH EXTRACT FROM EUPHORBIA MILII FLOWERS ON VARIOUS SPECIES OF FREE RADICALS- AN IN VITRO STUDY</i>	<b>298</b>
<b>Murat GENÇ, Ömer ÇOBAN &amp; Ayşe UYSAL</b> <i>BREEDING CAUSES OF REPEAT BREEDER SYNDROME IN CATTLE</i>	<b>309</b>
<b>Raziye Filiz AKKUŞ &amp; Vedat BARAN</b> <i>EFFECTS OF THE COVID-19 PROCESS ON VETERINARY</i>	<b>317</b>
<b>Gülçe İLHAN &amp; Sezai ERCİŞLİ</b> <i>APPLE: HISTORY, CULTIVATION, HUMAN HEALTH EFFECT AND FUTURE PERSPECTIVE</i>	<b>322</b>
<b>Mushap KURU &amp; Buket BOĞA KURU</b> <i>THE EFFECT OF ESTRUS SYNCHRONIZATION ON PREGNANCY RATE IN ABAZA GOATS DURING THE BREEDING SEASON</i>	<b>328</b>
<b>Buse DURMAZ &amp; Gülten TİRYAKİ GÜNDÜZ</b> <i>BIOACTIVE PROPERTIES OF TARRAGON (Artemisia dracunculus L.) EXTRACT AND ESSENTIAL OIL</i>	<b>335</b>
<b>Gülten TİRYAKİ GÜNDÜZ &amp; Ayça KORKMAZ VURMAZ, Özge AKGÜL</b> <i>THE EFFICACY OF ULTRASOUND TREATMENT COMBINED WITH PLANT MATERIALS ON FOODBORNE PATHOGENS</i>	<b>344</b>
<b>Şükran YEDİEL ARAS &amp; Ebru KARADAĞ SARI</b> <i>INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF DANDELION (TARAXACUM OFFICINALE) ON CATALASE RELEASE IN LIVER TISSUE OF DIABETIC RATS</i>	<b>351</b>

<b>Şilan ÇİÇEK &amp; Nazlı AYBAR YALINKILIÇ, Sema BAŞBAĞ</b> <b><i>DETERMINATION OF THE EFFECTS OF GIBBERELIC ACID CONCENTRATIONS ON GERMINATION AND EMERGENCE PERFORMANCE OF SOME FLAX (<i>Linum usitatissimum</i> L.) VARIETIES</i></b>	<b>359</b>
<b>Görkem ÖZÜLKÜ</b> <b><i>CLEAN LABELING OF BAKERY PRODUCTS</i></b>	<b>365</b>
<b>Mükremin ÖLMEZ, Tarkan ŞAHİN, Mehmet Akif YÖRÜK &amp; Buket BOĞA KURU, Özlem KARADAĞOĞLU, Mushap KURU, Hatice Gizem BÜYÜKBAKİ</b> <b><i>THE EFFECT OF VITAMIN-MINERAL COMBINATION TREATMENT ON SOME FERTILITY PARAMETERS IN AKKARAMAN EWES DURING THE BREEDING SEASON</i></b>	<b>371</b>
<b>Samet KUZGUN &amp; Mustafa SALMAN</b> <b><i>DETERMINATION OF THE IN VITRO DIGESTIBILITY OF SOME LOW QUALITY ROUGHAGE SOURCES</i></b>	<b>375</b>
<b>Banu AKGÜN, Nurcan Aşar GÜZELSOY, İlkem Demirkesen MERT &amp; VÉR ANDRÁS, Gabriella JANKÓ-KNAPP, Angel Martinez SANMARTIN, Ahmet BUDAKLIER</b> <b><i>UNDERSTANDING FOOD LITERACY: A REVIEW</i></b>	<b>381</b>
<b>Kamil Aykutalp GÜNDÜZ &amp; Fatih BAŞÇİFTÇİ, Züleyha YILMAZ ACAR</b> <b><i>EXAMINATION OF HERD MANAGEMENT SYSTEM MODULES AND DESIGN OF AN IoT SUPPORTED MODEL</i></b>	<b>392</b>
<b>Zehra Tuğba MURATHAN, Nurcan ERBİL &amp; Mehmet ARSLAN</b> <b><i>DETERMINATION OF SOME BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF CUCURBITA MOSCHATA DUCHESNE FRUIT GROWED IN THE TBILISI REGION</i></b>	<b>400</b>
<b>Gülşah SARAL &amp; Firdevs BİNLİ</b> <b><i>INFECTION-RELATED ABORTIONS IN DAIRY COWS</i></b>	<b>407</b>
<b>Arzu GEZER &amp; Ebru Karadağ SARI</b> <b><i>PYROPTOSIS and THE MECHANISM OF PYROPTOSIS</i></b>	<b>414</b>
<b>Ahmet Batuhan ÖNCEL &amp; Şima ŞAHİNDURAN</b> <b><i>CAUSES AND DIAGNOSIS OF FEVER IN CAT AND DOGS</i></b>	<b>419</b>
<b>Murat ATASEVEN, Osman KOLA &amp; Oktay TOMAR</b> <b><i>NUTRITIONAL VALUE AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF AMARANT SEED</i></b>	<b>426</b>
<b>Murat ATASEVEN, Osman KOLA &amp; Oktay TOMAR</b> <b><i>GENERAL PROPERTIES OF AMARANTH AND THE CHEMICAL COMPOSITION OF SEEDS</i></b>	<b>438</b>
<b>Murat Can DEMİR, Muhammet Ali KARADAĞ, Merve Sena KUMCU &amp; Mushap KURU, Semra KAYA, Cihan KAÇAR</b> <b><i>A CASE OF UTERINE PROLAPSE IN A KANGAL BITCH</i></b>	<b>451</b>
<b>Buket BAYIR, Akif UYSAL &amp; Deniz AY, Filiz AKDAĞ</b> <b><i>THE EFFECT OF BREED AND TEMPERAMENT FACTORS ON SOME BEHAVIORAL TRAITS IN MALE LAMBS</i></b>	<b>456</b>
<b>Buket BAYIR, Mustafa UĞURLU, Akif UYSAL &amp; Deniz AY, Furkan ATALAR, Filiz AKDAĞ, Bülent TEKE</b> <b><i>THE RELATIONSHIP BETWEEN LIVE WEIGHT AND TAIL MEASUREMENTS IN AKKARAMAN, KARAYAKA AND HERIK LAMBS FED A HIGH FORAGE AND CONCENTRATE DIET</i></b>	<b>459</b>
<b>Doğan YAŞAR &amp; Şenol KÖSE</b> <b><i>THE EFFECT OF PACKAGING TYPE AND STORAGE CONDITIONS ON MICROELEMENT CONTENT OF TRADITIONALLY PRODUCED MALATYA</i></b>	<b>465</b>



<b>CHEESE</b>	
<b>Orkhan HAJIYEV &amp; Filiz AKDAĞ</b> <i>THE DETERMINATION GROWTH PERFORMANCE AND SOME BODY SIZES OF LAMBS IN QARADOLAQ</i>	472
<b>Ceren KÖKLÜKAYA &amp; Şima ŞAHİNDURAN</b> <i>DIALYSIS IN DOGS AND CATS</i>	476
<b>Mustafa GÜRSES &amp; Pınar ŞEKERCİ KELEŞ</b> <i>ESCHERICHIA COLI IN THE BACTERIOLOGICAL QUALITY OF WATER</i>	486
<b>Elif Tuğçe AKSUN TÜMERKAN</b> <i>NUTRITIONAL VALUE OF SHRIMP BOILING WATER AND POTENTIAL USAGE IN FOOD INDUSTRY</i>	490
<b>Elif Tuğçe AKSUN TÜMERKAN</b> <i>USAGE OF PROTEIN BASED NANOFIBER IN FOOD INDUSTRY</i>	493
<b>Selinay ALKAYA &amp; Nevzat SAAT</b> <i>DEFENSE MECHANISM OF THE BREAST GLAND AND REDUCING THE RISK OF MASTITIS IN RUMINANTS</i>	496
<b>Ali YİĞİT</b> <i>RESPONSE OF DRY MATTER ACCUMULATION, YIELD AND BREAD-MAKING QUALITY OF BREAD WHEAT TO ORGANIC AND INORGANIC FERTILIZATION</i>	507
<b>Muharrem SATILMIŞ &amp; Murat ER</b> <i>THE EVALUATION OF THE REPRODUCTION AND GROWTH PERFORMANCE OF KIVIRCIK SHEEP BREEDS IN BALIKESIR PROVINCIAL CONDITIONS</i>	516
<b>Gönül Damla ALTUNTAŞ &amp; Nebahat BİLGE</b> <i>ANTIMICROBIAL RESISTANCE IN FOOD PATHOGENS</i>	521
<b>Özlem ESMER &amp; Betül ER</b> <i>FLEXIBLE PACKAGING IN THE CIRCULAR ECONOMY</i>	533
<b>Muhammad Shahbaz SHARIF, Evrim GENÇ &amp; Özlem BÜYÜKTANIR YAŞ, Oktay GENÇ</b> <i>ADVANCES IN MILK-BASED SEROLOGICAL TECHNIQUES FOR THE SCREENING OF BOVINE BRUCELLOSIS</i>	545
<b>Gözde Hafize YILDIRIM &amp; Nuri YILMAZ</b> <i>RISK FACTORS RELATED TO WHEAT CULTIVATION</i>	551
<b>Evrım GENÇ, Görkem TOPAL &amp; Oktay GENÇ, Özlem BÜYÜKTANIR YAŞ</b> <i>THE USE OF MICROSENSORS IN DIAGNOSIS: AN EXAMPLE OF APTAMER</i>	556
<b>Derya KARATAŞ YENİ</b> <i>SALMONELLA ABORTUS EQUI IN MARES: A CRITICAL APPROACH TO LABORATORY DIAGNOSIS</i>	563
<b>Ferhat Mazlum ODUNCU &amp; Muzaffer DENLİ</b> <i>THE SITUATION AND IMPORTANCE OF SILK FISH FOR TURKEY</i>	566
<b>Muhammet Ali KARADAĞ &amp; Duygu KAYA</b> <i>A NEW GENERATION ALTERNATIVE FOR REPRODUCTION MANAGEMENT and CONTROL IN DOGS - GnRH AGONIST IMPLANTS</i>	570
<b>Serpil AYGÖRMEZ &amp; Lale BAŞER, Emine ATAKİŞİ</b> <i>INVESTIGATION OF SERUM AST, ALT, ALP and GGT ACTIVITIES IN PERIPARTURIENT COWS</i>	579
<b>Lale BAŞER, Serpil AYGÖRMEZ &amp; Emine ATAKİŞİ</b> <i>BIOCHEMICAL ANALYSIS OF SOME INDICATORS OF PROTEIN METABOLISM IN THE PERIPARTURIENT PERIOD IN DAIRY COWS</i>	584

<b>Ali Burak DÖRTKARDEŞ &amp; Şima ŞAHİNDURAN</b> <b><i>SEPSIS, SEPSIS BIOMARKERS AND CYTOKINES IN CALVES</i></b>	<b>589</b>
<b>Nilgün AYDIN &amp; Cuma SALTAN, Gencay Taşkın TAŞCI</b> <b><i>THE PREVALENCE OF GASTROINTESTINAL NEMATODES IN CATTLE IN AĞRI REGION, TÜRKİYE</i></b>	<b>600</b>
<b>Tuğba KILIÇ &amp; Gülcan KOYUNCU</b> <b><i>SOME QUALITY PARAMETERS OF KARS GRUYERE CHEESE</i></b>	<b>607</b>
<b>Özlem KARADAĞOĞLU, Roshan Riaz &amp; Hatice Gizem BÜYÜKBAKİ, Tarkan ŞAHİN</b> <b><i>EFFECTS OF DIFFERENT POWDER OREGANO (<i>Origanum vulgare</i> L.) LEVELS ON GROWTH PERFORMANCE OF BROILERS</i></b>	<b>614</b>
<b>Murat Can DEMİR &amp; Cihan KAÇAR</b> <b><i>B-MODE AND DOPPLER ULTRASONOGRAPHY IN A COW WITH UTERINE TORSION</i></b>	<b>621</b>
<b>Raziye Filiz AKKUŞ &amp; Vedat BARAN</b> <b><i>AN ADVENTURE IN THE PANDEMIC PROCESS: SHEEP RAISING IN ARDAHAN</i></b>	<b>628</b>
<b>Zeki KILIN &amp; Zehra SELÇUK</b> <b><i>DETERMINATION OF RELATIVE FEED VALUE AND IN VITRO TRUE DIGESTIBILITY OF HUNGARIAN VETCH-OAT MIXTURE</i></b>	<b>634</b>
<b>Can ÇOKÇALIŞKAN</b> <b><i>PESTIVIRUS INFECTION IN PREGNANT SHEEP AND THEIR FOETUSES: AN OVERVIEW OF PAST DATA AND COMPARISON WITH CURRENT LITERATURE</i></b>	<b>638</b>
<b>Zeliha ERASLAN &amp; Özge SÜFER</b> <b><i>MORINGA OLEIFERA AS A FUNCTIONAL FOOD COMPONENT</i></b>	<b>646</b>
<b>Ece İNCEBIYIK &amp; Hatice ERDOST</b> <b><i>EFFECT OF CAPSAICIN ON MESENCHYMAL STEM CELLS OF ADIPOSE TISSUE</i></b>	<b>654</b>
<b>Vildan Akdeniz</b> <b><i>POSTBIOTICS: HEALTH EFFECTS AND POTENTIALITY IN FUNCTIONAL FOODS</i></b>	<b>661</b>
<b>Merve Gündüz &amp; Arda Sözcü, Ahmet Kaşif</b> <b><i>YOLK SAC UTILIZATION IN POULTRY</i></b>	<b>668</b>
<b>Tarkan ŞAHİN, Tuğçe Merve BERBEROĞLU, Benian YILMAZ &amp; Ebrar FİLİZOĞLU, Mükremin ÖLMEZ</b> <b><i>DETERMINATION OF SILAGE QUALITY IN MIXTURES OF TRITICALE AND COMMON VETCH AT DIFFERENT INCLUSION RATES</i></b>	<b>675</b>
<b>Berhanu Bekele, Wondmeh Esatu, Taddelle Dessie</b> <b><i>ROLE OF ARTIFICIAL INSEMINATION IN POULTRY: A REVIEW</i></b>	<b>680</b>
<b>Berhanu Bekele, Abdilgefar Kemal, Dilgeba Aman</b> <b><i>EVALUATION OF ARTIFICIAL INSEMINATION EFFICIENCY AND OESTRUS SYNCHRONIZATION IN DAIRY CATTLE: - A REVIEW</i></b>	<b>684</b>
<b>Pınar DEMİR &amp; Dilek ÇELİKLER</b> <b><i>DETERMINATION OF NUTRITION KNOWLEDGE LEVEL OF STUDENTS OF FACULTY OF VETERINARY MEDICINE: EXAMPLE OF SAMSUN</i></b>	<b>690</b>
<b>Büşra TALAN &amp; Serkan İrfan KÖSE</b> <b><i>A FATAL THREAT TO CATS: FELINE INFECTIOUS PERITONITIS</i></b>	<b>701</b>
<b>Dang Hoang Xuan Huy &amp; Nguyen Trong Luong, Nguyen Thi My Dung</b> <b><i>EVALUATING THE PRODUCTION EFFICIENCY OF OFFSHORE PURSE SEINE FISHING IN CA MAU PROVINCE, VIETNAM</i></b>	<b>714</b>

<b>Stanislava Stateva</b> <i>DISTRIBUTION AND CONTROLLED STORAGE OF THE MEDICINAL SPECIES GLYCYRRHIZA GLABRA L.</i>	<b>737</b>
<b>Esra SOLAK &amp; Hasene KESKİN ÇAVDAR, Sibel FADİLOĞLU</b> <i>ANTIOXIDANTS TO IMPROVE THE OXIDATIVE STABILITY OF FISH OIL</i>	<b>743</b>
<b>Muhammad Waqas &amp; Mustafa Salman</b> <i>SUPPLEMENTATION OF MANGO (MANGIFERA INDICA) AS A NUTRACEUTICAL PRODUCT IN THE DIET OF POULTRY</i>	<b>749</b>
<b>GNIHATIN B. A. DARIUS &amp; AKPO ARISTIDE. B</b> <i>CORN RESILIENCE IN THE FACE OF CLIMATE CHANGE CASE OF SNOPTIC STATIONS IN BENIN</i>	<b>764</b>
<b>Gamze Nur OLGUN, İzzet TURKER &amp; Hilal ISLEROĞLU</b> <i>PLANT-BASED PROTEINS AND THEIR USAGE IN THE FOOD INDUSTRY</i>	<b>776</b>
<b>Jose A. R. Cembranos, Irene Fernandez-Marcos</b> <i>NUTRITION AND UNIVERSITY EDUCATION</i>	<b>784</b>
<b>Neslihan ÖLMEZ, Nilgün AYDIN &amp; Barış SARI, Gencay Taşkın TAŞÇI</b> <i>DETECTION AND PREVALENCE OF CRYPTOSPORIDIOSIS AND COCCIDIOSIS IN GURCU GOATS</i>	<b>789</b>
<b>Felix Michael Oguche &amp; Zsolt Zoltán Fehér</b> <i>DEVELOPMENT OF AN INTELLIGENT IRRIGATION CONTROL AND REAL-TIME MONITORING HUB</i>	<b>795</b>
<b>Thi-Hoang-Anh TRAN</b> <i>FACTORS AFFECTING AGRITOURISM PARTICIPATION BY FARMER HOUSEHOLDS IN CAN THO CITY, VIETNAM</i>	<b>803</b>
<b>Osman Safa TERZİ &amp; Akife KAYA</b> <i>THE EFFECTS OF STEM CELL USE ON PROGNOSIS IN PATIENTS WITH CHRONIC RENAL FAILURE IN CATS: A CASE REPORT</i>	<b>819</b>
<b>Candan CANÖZER &amp; Şenol KÖSE</b> <i>THE USE OF ELECTRONIC NOSE IN FOODS</i>	<b>823</b>
<b>Can ÇOKÇALIŞKAN</b> <i>DETERMINATION OF THE EFFECTS OF DIFFERENT PACKAGING TECHNOLOGIES ON THE NUTRITIONAL VALUES OF FRESH-CUT SPINACH</i>	<b>835</b>
<b>Kanber KARA</b> <i>NUTRIENT COMPOSITION AND IN VITRO RUMINAL FERMENTATION OF CROWN VETCH FORAGE</i>	<b>854</b>
<b>Kanber KARA</b> <i>CONCENTRATION AND PREVALENCE OF MYCOTOXIN IN EXTRUDED DRIED TYPE DOG FOODS</i>	<b>864</b>
<b>Mustafa MAKAV &amp; Tarkan ŞAHİN</b> <i>THE EFFECT OF BETAIN ADDITIONAL ON BREAST MALONDIALDEHYDE AND GLUTATION LEVELS IN QUAILS</i>	<b>873</b>

## TREATMENT PROTOCOLS OF BENIGN PROSTATIC HYPERPLASIA IN MALE DOGS

*Kave Koorehpaz*

*Urmia university, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Theriogenology and  
Obstetrics, Urmia, Iran.*

*ORCID NO: 0000-0003-1968-9453*

### ABSTRACT

Male dog fertility disorders are usually troublesome and challenging for a practicing veterinarian. The decline in male dog fertility over the past decades was proved, with potential link to environmental contaminants. Reproductive maturity is associated with development of normal sexual behavior and production of sufficient number of normal, fertilizing competent spermatozoa. It corresponds with 12-18 months of animal age. Male dogs have only one accessory sexual gland - prostate, which produces vast portion of seminal plasma. Pathological conditions of the prostate are common in dogs. The increase in their incidence is mostly observed in older age and could be related to the physiological androgen-dependent hyper-development. Benign Prostatic Hyperplasia (BPH) develops as the result of constant influence of the active metabolite of testosterone, dihydrotestosterone (DHT), on prostatic glandular tissue. Impairment of the function and distortion of the structure of the gland are the obvious reasons for frequent simultaneous development of prostatitis and BPH. BPH is one of the most important geriatric problem in intact male dogs. Since dogs (apart from some primates) are the only nonhuman species diagnosed with spontaneous, age-related benign prostatic hyperplasia, canine BPH cases might become a valuable model to study this problem in humans. Nevertheless, reported clinical signs, symmetrical enlargement of the prostate on rectal palpation, and the results of the prostate biopsy, are key factors to diagnosis of BPH. Moreover, Prostatitis is the second most common prostatic pathological condition in dogs and is observed in males independently of the age but frequently as result of BPH in older dogs. The clinical trial proved osaterone acetate, deslorelin acetate and finasteride to be safe and effective in reducing BPH-related symptoms in dogs, and the noted adverse effects were only mild—mostly weight gain. Medications can be recommended for treatment of symptoms related to BPH in dogs, as none of the drugs had serious influence on the general health status and therefore provided substantial clinical improvement.

**Keywords:** Benign Prostatic Hyperplasia, Deslorelin acetate, Finasteride, Osaterone acetate, Castration

### 1. Introduction

The most common prostatic diseases in dogs are benign prostatic hyperplasia (BPH), abscesses, prostatitis, paraprostatic cysts, cysts and more rarely neoplasia and squamous metaplasia. Testosterone is the main circulating androgen in dogs that produced by Leydig cells of the testes and converted by type II 5 $\alpha$ -reductase into dihydrotestosterone (DHT) in prostate, seminal vesicles, epididymies, skin, liver, and brain. Since dogs (apart from some primates) are the only nonhuman species diagnosed with spontaneous, age-related benign prostatic hyperplasia, canine BPH cases might become a valuable model to study this problem in humans (Simmons et al., 2014). The etiology of BPH is still not completely elucidated. It is known that the main trigger factor is an imbalance between testosterone and estrogen synthesis due to senescence (lower concentrations of androgen and higher concentrations of estrogen) (Cunto et al., 2019; Cochran et al., 1981). The lack of endocrine equilibrium leads to a quantitative increase in prostate androgen receptors, upregulating testosterone action (Carson et al., 2009), which is the pivotal reason for a markedly conversion of testosterone into dihydrotestosterone (DHT) by the enzymatic action of 5 $\alpha$ -reductase (Cunto et al., 2019; Carson et al., 2009). Increased DHT concentrations provoke several prostatic alterations, such as hypertrophy and hyperplasia of glandular cells, angiogenesis (Carson et al., 2009) and even local oxidative stress in men (Savas et al., 2009) and dogs (Dearakhshandeh et al., 2019). The common clinical signs of prostatic diseases include dysuria and

hematuria, hemospermia/pyospermia, tenesmus, abdominal pain, stiff gait and sepsis (Levy et al., 2014). BPH can have a silent course, being asymptomatic in several cases, but is commonly related to tenesmus, dysuria, frequent urination, hematuria and hemospermia (Johnston et al., 2000; Levy et al., 2014). Nevertheless, subclinical prostatic disease appears to be common. The absence of specific signs of disease and the high prevalence of subclinical patients make it challenging to differentiate prostatic enlargement, infection and neoplasia in dogs. Ultrasonography is the gold standard of the complementary diagnostic techniques used to assess the prostate. It allows differentiation of focal or diffuse heterogenous echogenicity, prostatomegaly or cystic changes (Nyland et al., 1995). As BPH could impair fertility due to decreased libido or blood detection in the ejaculate, in stud dogs the prostatic disorders are often diagnosed earlier, before the late symptomatic stage occurs (Lopate et al., 2012). The treatment method of choice in non-breeding dogs is a surgical or pharmacological castration. Testes are the main source of testosterone, so its removal and the subsequent decrease in testosterone levels lead to the shrinkage of the gland, which around 9 weeks after castration, becomes no more than 25–30% of its initial size (Johnston et al., 2001). Because of the higher anesthetic risk related to age or concurrent disorders, the surgical castration is not always feasible. Also arising ethical concerns make surgical castration a questionable and even unacceptable method for treatment of BPH. In such cases, pharmacological therapy is to be considered. Various pharmacological agents were tried for BPH from estrogens, antiandrogens, 5 $\alpha$ -reductase inhibitors, progestogens to experimental therapies utilizing micronized endogenous fatty acid amides and resveratrol precursors (Brodbelt et al., 2008; Socha et al., 2018). In current retrospective study we have focused on surgical approaches and different pharmacological drugs that reduce the size of the enlarged prostate and alleviate the clinical pains of dogs with BPH.

## 2. Material and Methods

### 2.1. BPH diagnosis

For detection of BPH in male dogs, there have multiple approved methods including: clinical signs, cytology of prostate, hormonal assay, ultrasonographic examination and prostatic biopsy.

#### 2.1.1. Clinical symptoms

Dogs affected with BPH usually showing one or more of all following symptoms: hematuria and hemospermia, tenesmus, sanguineous discharge from the prepuce or urethra, examination of rectal palpation of the prostate.

#### 2.1.2. Cytology of prostate

Normal prostate gland cytology consists of clusters of cuboidal to columnar prostatic epithelial cells and must be uniform in appearance and diameter.

#### 2.1.3 Hormonal assay

Always during the morning period, blood samples were collected from the dogs by venous puncture into vacuum tubes without anticoagulant. The collection room was always maintained at 20 °C. Tubes were immediately centrifuged at 1,500 $\times$ g for 10 min and serum was drawn-off and stored in microtubes at -20 °C until analysis. Hormonal assays were performed with the use of commercial radioimmunoassay kits for quantitative measurement of testosterone and estrogen (Beckman Coulter®), previously validated for dogs and competitive ELISA kits for dihydrotestosterone assay, previously validated for dog. For estradiol, the intra-assay coefficients were 7.15% (high intra-assay) and 3.45% (low intra-assay) and the limit detection was 1.12 pg/mL. For testosterone, the intra-assay coefficient was 4.52% and the limit detection was 0.01 ng/mL. For dihydrotestosterone, the limit detection was 6.58 pg/mL and the coefficient of variation ranged from 3.03% (low intra-assay) and 9.86% (high intra-assay).

#### 2.1.4 Ultrasonographic examination

The dogs were positioned in lateral recumbency or in a quadrupedal position for examination. A B-mode ultrasound with linear (4-13 MHz) and micro-convex transducers (6.6-8.0 MHz) was used to obtain scans of the prostatic gland. The prostate was evaluated according to its size, margins, echogenicity, echotexture, and integrity of the capsule.

### 2.1.5 Prostatic biopsy

Transabdominal ultrasound guided prostatic biopsy was carried after the examination. Dogs were sedated and positioned in dorsal recumbency. A transverse section of the prostate was visualized by B-mode and an 18G semi-automatic guillotine biopsy needle was inserted through the inguinal abdominal wall into the ventral portions of the right and left prostatic lobes. The biopsies were processed for histological examination according to routine methods. Biopsy samples reading were performed by the laboratory. Dogs were assigned to different pathological categories according to the severity of histological findings.

## 2.2 BPH treatment

### 2.2.1 Pharmacological castration

Osaterone acetate, deslorelin acetate and finasteride are the most useful drugs for reducing the size of the prostate with different acts on hormonal pathways.

#### 2.2.1.1 Osaterone acetate

Osaterone acetate is the steroidal antiandrogen, which treats BPH by inhibiting the action of  $5\alpha$ -reductase and reducing the uptake of androgens in prostatic tissue. Osaterone acetate use has been widely studied and proved to be very effective for BPH therapy. its marketed as oral tablets in four different strengths depending on the dog's body weight, relieving clinical symptoms for five months after a 7-day treatment course. Moreover, stud dogs under the OA treatment remain fertile and may still be used for mating (Tsutsui et al., 2001; Socha et al., 2018).

#### 2.2.1.2 Deslorelin acetate

Deslorelin acetate is GnRH superagonist, which after the initial rise in pituitary gland hormones, leads to desensitization of the receptors responsible for the gonadotrophin release, followed by the dose- and time-dependent depletion in LH and FSH, which finally induces negative-feedback and markedly decreases the production of androgens. Apart from stopping the sperm production and reducing libido and sexual behavior, it also affects the prostate gland, decreasing its size which is similar to the effect seen from surgical castration. For dogs, it is manufactured as a subcutaneous implant distributed in two sizes and induces infertility for at least 6–12 months.

#### 2.2.1.3 Finasteride

Finasteride is a synthetic inhibitor of  $5\alpha$ -reductase and acts by blocking its enzymatic action, therefore reducing DHT levels and ultimately, decreasing prostatic size and clinical signs related to BPH (Kaplan et al., 2001; Angrimani et al., 2018). On the other hand, finasteride therapy in men has been demonstrated to cause erectile dysfunction, loss of libido and poor sperm quality, such as oligospermia and azospermia (Chiba et al., 2011; Glina et al., 2004). Nonetheless, decreased sperm quality was only observed after long term treatment with finasteride in dogs (Sirinarumitr et al., 2001).

### 2.2.2 Surgical castration

By removing testes in dogs that affected with BPH, testosterone levels decrease because testes are the main source of testosterone secretion. Nine weeks after surgical castration, prostate size reduced 25-34% of its initial size.

## 3. Results

BPH affected dogs fully recovered from the initial clinical signs of the hyperplastic prostate after 30 days of consecutive finasteride treatment. Dihydrotestosterone concentrations in Finasteride-treated dogs will reduce in comparison to non-treated BPH affected dogs. Recent studies demonstrated that BPH affected dogs treated with finasteride shows increase in testosterone concentrations in comparison to non-treated BPH affected dogs. Computer-assisted semen analysis prove that BPH-affected dogs treated with finasteride have higher total motility, progressive motility and better sperm velocity average pathway in comparison to non-treated dogs affected with BPH. Moreover, analysis of oxidative profile of prostatic fluid shows that glutathione peroxidase (GPx) concentration is higher in finasteride-treated dogs in comparison to non-treated dogs. At the end, both deslorelin acetate and osaterone acetate

alleviate multiple symptoms of BPH in dogs. Nevertheless, some treatment-related adverse effects observed in affected dogs that treated with osaterone acetate and deslorelin acetate including weight gain, cystitis, decreased activity levels and dull and dry hair coat. Incidence of weight gain and cystitis in dogs treated with deslorelin acetate is much higher compared to osaterone acetate-treated dogs. On the other hand, rate of occurrence dull and dry hair coat in osaterone acetate treated dogs is higher in comparison to deslorelin acetate treated dogs.

#### 4. Conclusions

Benign prostatic hyperplasia is a homologous condition in men and dogs, and the most commonly diagnosed prostatic disorder in aged and intact dogs (Berry et al., 1984; Gilmore and Greer 2015). we assume that spermatogenesis dysfunction in BPH dogs is an indirect consequence of the hormone imbalance rather than a consequence of testicular morphological alterations, since no remarkable histological findings were observed that can justify the significant reduction in sperm concentration and higher percentage of minor sperm defects. Additionally, alterations of sperm kinetics in BPH dogs can be related to the decreased secretory function of Leydig cells. Also, oxidative stress and ROS generation are considered to occur only in severe and chronic prostatic disorders, with loss of prostatic parenchyma integrity (Li et al., 2015). In conclusion, dogs with benign prostatic hyperplasia present a hormonal imbalance, leading to seminal changes related mostly to sperm kinetics.

#### References

- Angrimani, D. S. R. et al. Effects of benign prostatic hyperplasia and finasteride therapy on prostatic blood flow in dogs. *Teriogenology* 114, 103–108 (2018).
- Berry, S. J., Coffey, D. S., Walsh, P. C. & Ewing, L. L. The development of human benign prostatic hyperplasia with age. *J. Urol.* 132, 474–479 (1984).
- Brodbeck, D.C.; Blissitt, K.J.; Hammond, R.A.; Neath, P.J.; Young, L.E.; Pfeiffer, D.U.; Wood, J.L. The risk of death: The confidential enquiry into perioperative small animal fatalities. *Vet. Anaesth. Analg.* 2008, 35, 365–373. [CrossRef]
- Carson, C. & Rittmaster, R. The role of dihydrotestosterone in benign prostatic hyperplasia. *Urology.* 61, 2–7 (2003).
- Chiba, K., Yamaguchi, K., Li, F., Ando, M. & Fujisawa, M. Finasteride-associated male infertility. *Fertil. Steril.* 95(1786), e9-11 (2011).
- Cochran, R. C., Ewing, L. L. & Niswender, G. D. Serum levels of follicle stimulating hormone, luteinizing hormone, prolactin, testosterone, 5 alpha-dihydrotestosterone, 5 alpha-androstane-3alpha, 17 beta-diol, 5 alpha-androstane-3beta, 17 beta-diol, and 17 beta-estradiol from male beagles with spontaneous or induced benign prostatic hyperplasia. *Invest. Urol.* 19, 142–147 (1981).
- Cunto, M., Mariani, E., Guido, E. A., Ballotta, G. & Zambelli, D. Clinical approach to prostatic diseases in the dog. *Reprod. Domest. Anim.* 54, 815–822 (2019).
- Dearakhshandeh, N. et al. Changes in the oxidative stress factors and inflammatory proteins following the treatment of BPH-induced dogs with an anti-proliferative agent called tadalafil. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 42, 665–672 (2019).
- Gilmore, K. M. & Greer, K. A. Why is the dog an ideal model for aging research *Exp. Gerontol.* 71, 14–20 (2015).
- Glina, S. et al. Finasteride-associated male infertility. *Rev. Hosp. Clín.* 59, 203–205 (2004).
- Johnston, S. D., Kamolpatana, K., Root-Kustritz, M. V. & Johnston, G. R. Prostatic disorders in the dog. *Anim. Reprod. Sci.* 61, 405–415 (2000).
- Johnston, S.D.; Root-Kustritz, M.V.; Olson, P.N. Disorders of the canine prostate. In *Canine and Feline Theriogenology*; Johnston, S.D., Root-Kustritz, M.V., Olson, P.N., Eds.; Saunders Co.: Philadelphia, PA, USA, 2001; pp. 337–355.

- Kaplan, A., Friedman, N. & Davidson, N. Acousto-optic lens with very fast focus scanning. *Opt. Lett.* 26, 1078–1080 (2001).
- Levy X, Nizanski W, von Heimendahl A, Mimouni P. Diagnosis of common prostatic conditions in dogs: an update. *Reprod Domest Anim.* 2014;49 Suppl 2:50-7.
- Li, N. et al. Lead accumulation, oxidative damage and histopathological alteration in testes and accessory glands of freshwater crab, *sinopotamon henanense*, induced by acute lead exposure. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 117, 20–27 (2015).
- Lopate, C. The Problem Stud Dog. *Vet. Clin. N. Am. Small Anim. Pract.* 2012, 42, 469–488. [CrossRef]
- Nyland TG, Mattoon JS. Prostate and testes. In: Nyland TG, Mattoon JS, editors. *Veterinary 332 diagnostic ultrasound*. Philadelphia: Saunders; 1995. p. 250-9.
- Savas, M. et al. Oxidative stress in BPH. *J. Nepal Med. Assoc.* 48, 41–45 (2009).
- Simmons, J.K.; Elshafae, S.M.; Keller, E.T.; McCauley, L.K.; Rosol, T.J. Review of Animal Models of Prostate Cancer Bone Metastasis. *Vet. Sci.* 2014, 1, 16–39. [CrossRef]
- Sirinarumitr, K. et al. Effects of finasteride on size of the prostate gland and semen quality in dogs with benign prostatic hypertrophy. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 218, 1275–1280 (2001).
- Socha, P.; Zduńczyk, S.; Tobolski, D.; Janowski, T. The effects of osaterone acetate on clinical signs and prostate volume in dogs with benign prostatic hyperplasia. *Pol. J. Vet. Sci.* 2018, 21, 559–566. [CrossRef] [PubMed]
- Tsutsui, T.; Hori, T.; Shimizu, M.; Tatsuzawa, C.; Kawakami, E. Effect of Osaterone Acetate Administration on Prostatic Regression Rate, Peripheral Blood Hormone Levels and Semen Quality in Dogs with Benign Prostatic Hypertrophy. *J. Vet. Med. Sci.* 2001, 63, 453–456. [CrossRef]



**EFFECTS OF PASTEURIZED SHEEP'S MILK USE ON PRODUCTION AND MATURATION  
OF SIIRT HERBY CHEESE**

**PASTÖRİZE KOYUN SÜTÜ KULLANMANIN SIIRT OTLU PEYNİRİNİN ÜRETİMİ VE  
OLGUNLAŞMASI ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Murat GÜLMEZ**

*Department of Food Hygiene and Technology, Faculty of Veterinary Medicine, Siirt University,  
56200, Siirt, Turkey.*

*ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-3888-6815>*

**Kübranur YILDIZ BAYHAN**

*Department of Food Hygiene and Technology, Faculty of Veterinary Medicine, Siirt University,  
56200, Siirt, Turkey.*

*ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-9740-9843>*

**Sefa ÜNER**

*Department of Food Hygiene and Technology, Faculty of Veterinary Medicine, Siirt University,  
56200, Siirt, Turkey.*

*ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-0416-7476>*

**ABSTRACT**

Siirt herby cheese is a variety of local cheeses, and raw sheep's and goat's milk are used in its production. The curds obtained by curdling the milk obtained in the highlands is sold in the city centre during the day or the next day. Siirt herby cheese is produced from the retail curds. Three different cheese samples from retail curd, raw sheep's and pasteurized sheep's milks were made. The samples were ripened at 4°C for 120 d. Hygienic quality of raw milk supplied from a farm and raw milk curd bought from local retailers did not have adequate hygiene. Coagulase positive staphylococci were  $3.11 \pm 0.6 \log_{10}$  cfu/ml in raw milk, then it increased to  $6.6 \pm 0.5 \log_{10}$  cfu/g in the curd before salting. Pasteurization of milk was decreased the total count of the coagulase positive staphylococci below the maximum permissible value ( $10^3$  cfu/g) in the regulation on Microbiological Criteria of the Turkish Food Codex. These samples were only contained  $>10^3$  cfu/g coagulase positive staphylococci at the 120<sup>th</sup> d of ripening. The pasteurization of milk allowed to obtain cheese that meets the desired hygienic criteria. In addition, sufficient acidity and pH development were observed in pasteurized dairy cheeses even though starter culture was not used. It was found that the traditional cheese production using both retail curd and raw milk may not be suitable for producing cheese in accordance with the official standards and regulations. It was concluded that in the case of the production of these cheeses, it is not appropriate to offer them for sale before the completion of the legal ripening period of 120 d. It was deemed necessary to conduct further research in order to draw up a production diagram including the parameters of the Siirt herby cheese production process.

**Key Words:** Siirt herby cheese, hygiene, pasteurised milk, quality.

**ÖZET**

Siirt otlı peyniri yöresel bir peynir çeşidi olup üretiminde çiğ koyun ve keçi sütleri kullanılmaktadır. Yaylalarda elde edilen süütün mayalanması ile elde edilen teleme gün içerisinde veya ertesi gün şehir merkezlerinde satılmaktadır. Siirt otlı peyniri bu telemelerden üretilmektedir. Satın alınan teleme ile çiğ ve pastörize koyun sütü kullanılarak 3 farklı peynir örneği yapıldı. Numuneler 4°C'de 120 gün süreyle olgunlaştırıldı. Bir çiftlikten temin edilen çiğ süütün ve bu süttten yapılan telemenin hijyenik kalitesinin yeterli olmadığı gözlemlendi. Koagülaz pozitif stafilocoklar çiğ sütte  $3.11 \pm 0.6 \log_{10}$  kob/ml iken,

tuzlamadan önceki aşamada telemede  $6.6 \pm 0.5$  kob/g'a ulaştığı gözlemlendi. Sütün pastörizasyonu Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'nde izin verilen maksimum değerin ( $10^3$  kob/g) altına ancak 120. günde düştüğü gözlemlendi. Sütün pastörizasyonunun istenen hijyenik kriterlere uygun peynir elde edilmesini sağladı. Ayrıca pastörize süt peynirlerinde de starter kültür kullanılmadığı halde yeterli asitlik ve pH gelişimi gözlemlendi. Gerek satış yerlerindeki teleme ve gerekse çiğ süt kullanarak geleneksel peynir üretiminin standart ve mevzuata uygun peynir üretmek için uygun olmayabilir. Bu peynirlerin üretilmesi durumunda yasal olgunlaştırma süresi olan 120 günün tamamlanmadan satışa sunulmasının uygun olmadığı sonucuna varıldı. Siirt otlı peyniri üretim prosesine ait parametreleri de içeren bir üretim şemasının çıkarılması için daha fazla araştırmanın yapılması gerekli görüldü.

**Anahtar Kelimeler:** Siirt otlı peyniri, hijyen, pastörize süt, kalite.

## 1. INTRODUCTION

While there are about 2000 types of cheese in the world, Türkiye, which has 193 of them, has been called "cheese heaven". The journey of each of these cheeses from production to consumption is different (1). It has been reported that the gastronomic value of this rich cheese variety should be brought to the fore (2). It has been stated that the production technology of many cheese varieties in Anatolia should be developed. So, the products should have been made at standard manners to increase export potential of these cheeses should be used (3,4). A total of 753 thousand tons of cheese produced in Türkiye. We could not find out the knowledge about how much traditional cheese, and also how much herby cheese is produced in Türkiye (5). Nevertheless, it has been reported in a study that per capita consumption of herby cheese is 14.74 kg/year in Eastern Anatolia and South-eastern Anatolia regions, and the Türkiye average is 3.2 kg/year (6). The most produced type of herby cheese in Türkiye is Van herby cheese and it has a Geographical Indication Certificate (5). Other herby cheeses are Urfa, Bitlis, Hakkari, Trabzon, Erzincan Keçene and Siirt herby cheeses. Most of the previously made studies on the herby cheeses have been conducted on Van herby cheese (3,7-10).

The minimum technical and hygienic criteria for cheeses have been established with official documents and official inspections are carried out accordingly (11-13). Chemical and microbiological quality characteristics of herby cheeses have been investigated and possible health risks have been emphasized (7,14,15). However, it has been revealed by researchers that there are no product standards in local cheeses produced outside of commercial enterprises, the hygienic quality of these products is low and they do not provide sufficient assurance in terms of public health (16-18). It has been reported that the chemical qualities of herby cheeses on sale have not founded in accordance with related standards (19-23). It has also been reported in the previously made studies that hygienic quality of cheese samples examined have not been determined to be good (14,24-28).

Siirt herby cheese is generally produced from raw sheep's milk or a mixture of sheep, cow's and goat's milk. While the main herb added to cheese is sirmo (sirik, *Allium sp.*), herbs called heliz (*Ferula orientalis*) and çiriş (*Eremurus spectabilis*) are also used depending on the taste of the household (6).

The unique qualities of cheese are shaped by many factors. Milk constituents, microbiota composition, process parameters used, ripening regimes and many other factors are prevailed effective on the quality characteristics of the cheese (29-34). Developing raw milk cheese technology is very difficult due to the risk of pathogenic bacteria (35). Many scientific researches on the process development for some of the other herby cheese varieties have been conducted previously (36-42). Few studies have been conducted on the Siirt herby cheese (6,23,24,27). Herby Cheese Standard is the reference regulation for making the cheese (43).

In this study, two different cheese samples were prepared; one from raw milk and the other pasteurised milk. Also, as for control samples, one d old curd was purchased from the retail stores in the city centre and used for making herby cheese as for mimicking traditionally produced Siirt herby cheese. So, it is aimed to investigate in this study that differences between raw and pasteurized milk use, and also retailed curd use on the final chemical and microbiological composition of the Siirt herby cheese during a 120 d of ripening period.

## 2. MATERIALS AND METHODS

Three different cheese samples were made from retail curd, raw milk and pasteurized milk. So, curd cheese, raw milk cheese and pasteurized milk cheese were made. Experimental cheese samples maintained at 4°C for ripening, and were analysed once a mo. for in a 4 mo. of ripening period.

*Raw milk:* A 25 l of newly milked sheep's milk was purchased from a sheep farm located in the city centre of Siirt. The milk was filtered through a cloth strainer and brought to the laboratory within 1 hour. Half of the milk was used raw, and the other half was pasteurized and used to make cheese.

*Coagulant:* A microbial cheese coagulant including rennet at 20.000 MCU/ml activity (Mayasan®, İstanbul Türkiye) was purchased from a local market and stored at 4 °C until use. *Herb* (Sirimo, Sirik, *Allium sp.*): Herbs collected from the highlands and sold by the citizens in the market were used. After the herbs were removed and washed with drinking water, they were chopped to a size of approximately 5 mm and added to the curd at a rate of 3%, w/w as recommended by many local Siirt herby chees producers (personal communications).

*Salt:* Rock salt from the region was used in cheese making was used in cheese making.

*Press material:* Plastic containers filled with water at a rate of 70 % of total weight of each portion milk used for making each part of the curd samples. Then, the water containers were used as press by putting them on the draining curd portions.

*Making herby cheese by using raw milk:* Raw sheep's milk was heated up to 35 °C. Calcium chloride (200 ppm, w/v) was added to the milk. Coagulant was added to the milk at 35 °C to be the same as applied to the pasteurized milk and waited for 40 min for coagulation. The clot was cut into 1x1x1 cm as made by Ocak et al. (38) and waited for 30 min for clot hardening. The clot was added in a press cloth and the press material was put on the curd for 60 min as make it standard for all the samples. So, we could not find a standard whey drainage time period in the literature applied for herby cheese making. The pressed curd was crumbled to the size of chickpeas. Then, a 3% (w/w) chopped Sirimo (*Allium sp.*) and a 3% salt was added to the crumbled curd and mixed. The same press material was put on the curd in cloth once again for 90 min to make extra drainage. The cheese samples obtained were separately crumbled to the size of chickpeas cheese and also separately filled tightly in 100 ml sample containers (5).

*Making herby cheese using pasteurized milk:* Raw milk in stainless steel container was heated at 72°C by using a kitchen type gas stove. The heat temperature was controlled by using a thermometer (Thermopro TP02S, ThermoPro Co., USA) Milk was stirred gently for 3 min after termination of the heating to make heat treatment more uniform. Then, the milk was cooled to 37°C by soaking the milk container in a cold water bath. All other processes were applied as in the production of raw milk cheese as mentioned above.

*Making herby cheese using retail curd:* A 2 kg of curd was bought from a local curd retailer in Siirt province and transferred to the laboratory under cold storage (4 °C) in 1 h. The curd was crumbled to the size of chickpeas. Then it was mixed with 3% (w/w) herb (sirimo) and 3% (w/w) salt, then pressed for 90 min as mentioned above. At the end of the pressing, the crumbled curd again in the size of chickpeas, and the plastic sample cups with a volume of 100 ml were filled in such a way that there was no air gap.

*Raw milk analysis:* pH measurement was made with a handheld pH meter (AZ 8685, Taiwan). Acidity determination was made by titrimetric method and the results were given as % l.a. In addition, milk analysis was performed with a milk analyser (Lactoscan LS, Nova Zagora, Bulgaria).

*Determination of coagulant strength:* A domestic commercial rennet used for cheese making was diluted 1/10. Raw milk was heated to 35 °C. A 1 ml of reconstituted coagulant was added to 50 ml of heated milk and the clot formation time was determined. Coagulant strength was calculated according to the formula (44).

*Analysis of milk, curd and cheese:* The pH was measured by using a digital pH meter (Milwaukee AZ8686, USA) (45). Titratable acidity (lactic acid, %) was determined by using 0.1 N NaOH and phenolphthalein indicator as stated to TS 591/ March 2013 (46). The dry matter and ash were

determined gravimetrically according to TS EN ISO 5534/AC (47). The fat content was determined by using Van Gulik method (TS ISO 3433) (48). Salt in dry matter was determined by titration according to TS EN ISO 5943; 2007 (49).

For microbiological analysis, reference methods were followed (50). Briefly, 10 g from each sample was used for making ten-fold serial dilutions in 90 ml of sterile physiological saline (PS). For count of total aerobic mesophilic bacteria (TAMB), Plate Count Agar (PCA, Oxoid CM 0463) was used and the petri dishes were incubated at  $30\pm 2^{\circ}\text{C}$  for 72 h for count of *Enterobacteriaceae*, Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA, Oxoid-CM0485) was used and the petri dishes were incubated at  $37\pm 2^{\circ}\text{C}$  for 48 h. For coliforms, Violet Red Bile Lactose Agar (VRBLA, Oxoid CM0107) was used and the petri dishes were incubated at  $37^{\circ}\text{C}$  for 24 h. The growing pink-red colonies with a pink precipitation ring around were counted. For coagulase positive staphylococci, Baird Parker Agar plates including Baird Parker Agar Base (BPA, Oxoid CM1127) and Egg Yolk Tellurite Emulsion (Oxoid SR0054) were used. The plates were incubated at  $37^{\circ}\text{C}$  for 48 h. Black shiny coagulase positive colonies with a diameter of 1.5 - 2.5 mm with a transparent zone around were counted. Then, 5 susceptible colonies selected randomly for each sample were tested for their coagulase reaction before calculation of cfu/g values. For yeasts and molds, Yeast Extract Glucose Chloramphenicol Agar (YGCA, Merck 1.16000) was used and the petri dishes were incubated at  $25^{\circ}\text{C}$  for 5 d. Colonies grown on the medium were counted.

The study was repeated in triplicate and each analysis was made in duplicate. The mean and standard deviation values were calculated by using the Microsoft Excel program. Means with a significant difference were compared by Duncan's multiple range tests by using SPSS v.15.00 program (Chicago, Illinois, USA) and P values  $<0.05$  were considered statistically significant. The standard deviation values ( $\pm\text{SD}$ ) are given in the Table 2 and Table 3.

### 3. RESULTS

The mean values from the raw milk used in the study were as follows: pH 6.7, acidity (% l.a) 0.2, dry matter (% w/w) 12, protein (% w/w) 6.1, fat (% w/w) 7.2, lactose (% w/w) 4.8, salts (% w/w) 0.8 and density 1.034.

Raw milk was subjected to microbiological analysis within 1 hour after being taken from the farm. The results are given in Table 1. As seen in Table 1, it was determined that the bacterial and yeasts and molds loads were quite high in curd made with raw milk.

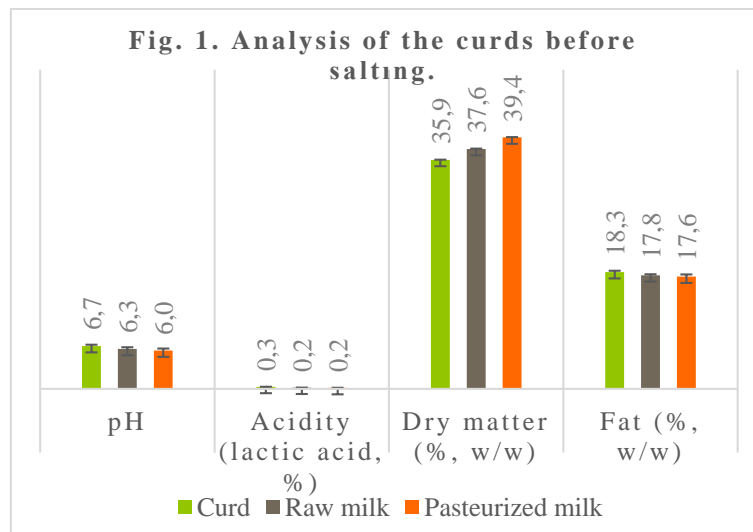
The pH values of the retail curd, raw milk curd and pasteurized milk curd were found to be 6.7, 6.7 and 6.0, respectively, after the curd was filtered and herb was added. Acidity values were found to be 0.3, 0.2 and 0.15 in the same order. The findings are given in Figure 1.

**Table 1:** Microorganism loads of raw milk and raw milk curd before salting ( $\log_{10}$  cfu/g).

	Total mesophilic aerobes	<i>Enterobacteriaceae</i>	Coliforms	Yeasts and molds	Coagulase positive staphylococci	Lactobacilli	Lactic streptococci
<b>Raw milk</b>	6.8 $\pm$ 0.6	6.3 $\pm$ 0.3	5.1 $\pm$ 0.4	5.1 $\pm$ 0.2	3.1 $\pm$ 0.6	3.96 $\pm$ 0.2	7.3 $\pm$ 0.3
<b>Raw milk curd (before salting)</b>	9.8 $\pm$ 0.2	8.2 $\pm$ 0.2	8.9 $\pm$ 0.5	9.8 $\pm$ 0.4	6.6 $\pm$ 0.5	9.70 $\pm$ 0.3	10.65 $\pm$ 0.6

Within the values before salting, the pH of the ready-made curd was found to be higher than the other two samples. Dry matter ratio of pasteurized milk curd was found to be higher than the other two samples (39.4%). There was no statistically significant difference among the samples in terms of fat ratios (Figure 1).

**Figure 1.** Values of physical and chemical analyzes of curds before salting



Three different cheeses were made by processing three different curds in the same way, and they were packaged in Ø63 x 65 mm polypropylene sample containers (L 102348, Lp Italiana) and kept in the cold. Analyses were performed on the 1<sup>st</sup>, 30<sup>th</sup>, 60<sup>th</sup>, 90<sup>th</sup> and 120<sup>th</sup> d of 4°C of cold storage. The pH and chemical analysis results are given in Figure 2.

While the initial pH values were similar in all three samples, the decrease in the following days was more in the retail curd samples ( $p < 0.05$ ). After the 90<sup>th</sup> d, pH decreases followed an approximately horizontal course and decreased to the level of 5 at the 120<sup>th</sup> d (Figure 2a).

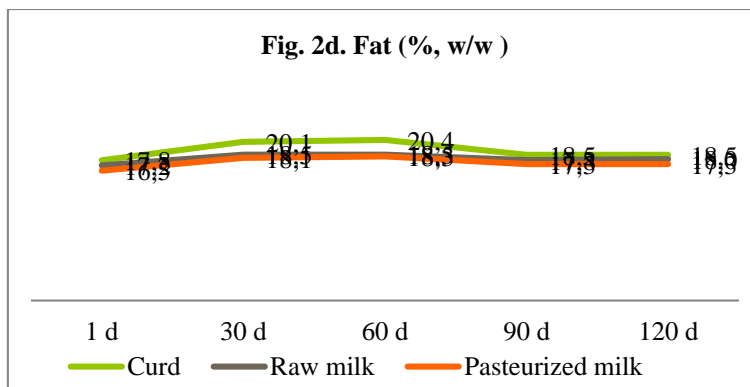
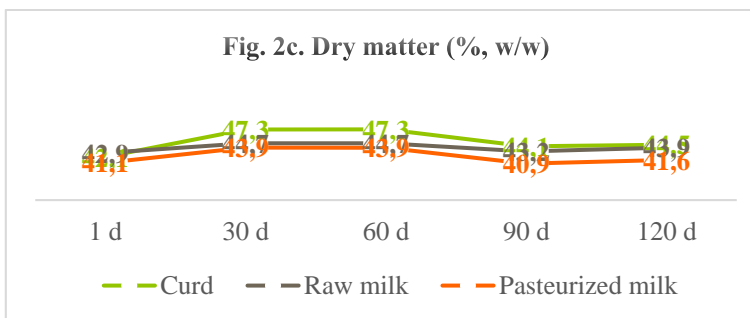
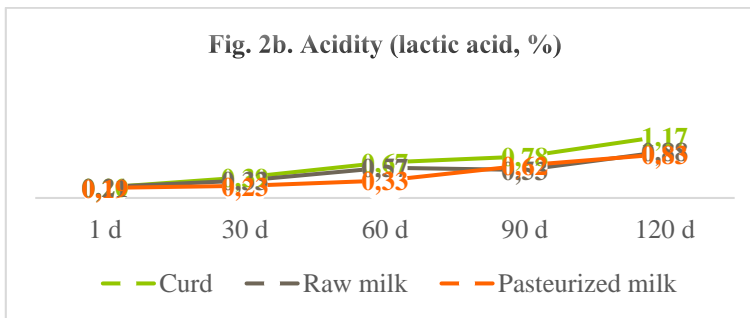
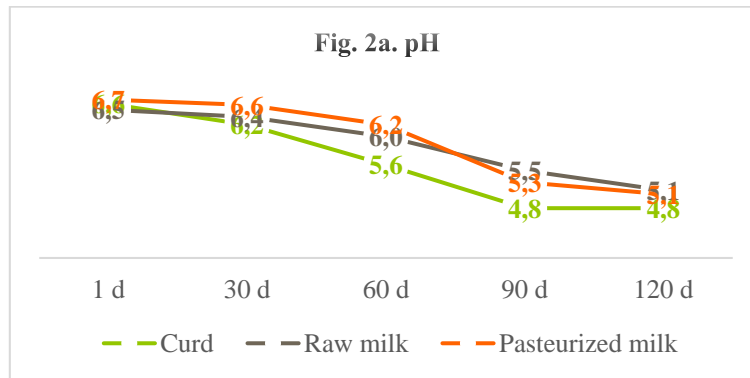
While the initial acidity values were similar in all three samples, the increase in the following days was more in the curd cheeses purchased from the seller. The increase in acidity continued in all three samples until the 120<sup>th</sup> d and the highest (1.17 %) was observed in cheese made using curd bought from the seller ( $p < 0.05$ ). In the other two samples, the acidity reached approximate values on the 90<sup>th</sup> and 120<sup>th</sup> d (Figure 2b).

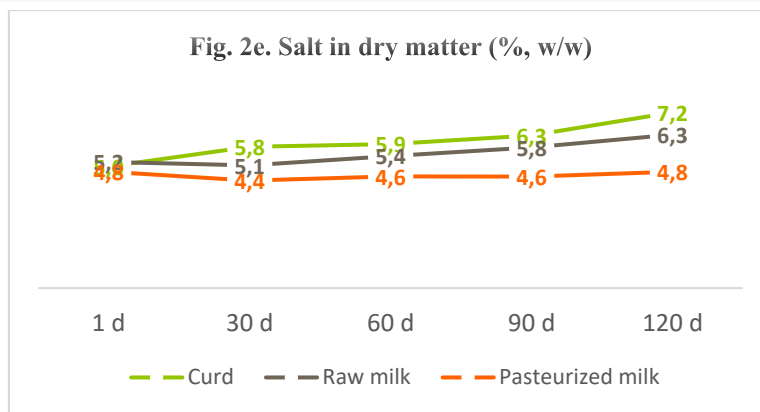
When the values from high to low in terms of dry matter levels were ranked, cheese made from curd were raw milk cheese and pasteurized milk cheese. It was observed that the moisture loss in the samples was not at a significant level (Figure 2c).

While the fat levels were highest in cheese made from curd, this difference disappeared after the 90<sup>th</sup> d and the fat levels in all three samples were similar. It was observed that the cheese samples completed the ripening period with the fat level between 17.5% and 20.4% (Figure 2d).

In terms of salt levels, it was observed that cheeses made from curd were always high at 120<sup>th</sup> d, while pasteurized milk cheeses had the lowest salt values. It was observed that the salt added at the rate of 3% of the curd weight remained lower in pasteurized milk samples during ripening compared to the others (Figure 2e) ( $p < 0.05$ ).

**Figure 2 (a,b,c,d,e).** Values of physical and chemical analyzes in 120-d cold storage in Siirt herby cheese samples produced by using retail curd, and also raw milk and pasteurized sheep's milk.





**Table 2:** The standard deviations ( $\pm$ SD) of values given at Figure 2.

Figure no.	Cheese / ripening d	1	30	60	90	120
<b>Fig. 2a.</b> pH	Retail curd cheese	0,2	0,1	0,2	0,3	0,1
	Raw milk cheese	0,2	0,1	0,3	0,3	0,1
	Pasteurized milk cheese	0,3	0,2	0,3	0,2	0,1
<b>Fig. 2b.</b> Acidity, % l.a.	Retail curd cheese	0,02	0,01	0,02	0,02	0,03
	Raw milk cheese	0,01	0,02	0,03	0,02	0,02
	Pasteurized milk cheese	0,01	0,02	0,02	0,01	0,03
<b>Fig. 2c.</b> Dry matter, %	Retail curd cheese	0,1	0,1	0,6	0,6	0,3
	Raw milk cheese	0,4	0,6	0,6	0,5	0,4
	Pasteurized milk cheese	0,8	0,3	0,3	0,5	0,3
<b>Fig. 2d.</b> Fat, %	Retail curd cheese	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1
	Raw milk cheese	0,2	0,3	0,3	0,2	0,2
	Pasteurized milk cheese	0,3	0,1	0,1	0,2	0,1
<b>Fig. 2e.</b> Salt in dry matter, %	Retail curd cheese	0,2	0,2	0,4	0,2	0,2
	Raw milk cheese	0,2	0,2	0,2	0,1	0,3
	Pasteurized milk cheese	0,3	0,2	0,3	0,3	0,4

Total bacterial counts were found to be higher in retail curd and raw milk samples on the 1<sup>st</sup> and 30<sup>th</sup> d compared to pasteurized milk samples ( $p < 0.05$ ). In the following period, the numbers were found to be similar in all three samples (Figure 3a).

Although the numbers of *Enterobacteraceae* decreased gradually in retail curd and raw milk samples, it was observed that they were in very high numbers than that of the pasteurised milk sample ( $p < 0.05$ ). *Enterobacteraceae* counts were determined to be 3.68 log<sub>10</sub> cfu/g at 1<sup>st</sup> d of cold storage and  $> 1$  log<sub>10</sub> cfu/g in pasteurized milk cheese samples at the 1<sup>st</sup> d of ripening (Figure 3b).

Although the numbers of coliforms decreased gradually in the curd and raw milk samples, it was observed that they were quite high. This number was determined as 3.20 log<sub>10</sub> cfu/g in pasteurized milk cheeses at the 1<sup>st</sup> d of ripening. Then, it was determined to decreased to the level of  $> 1$  log<sub>10</sub> cfu/g in the samples (Figure 3c).

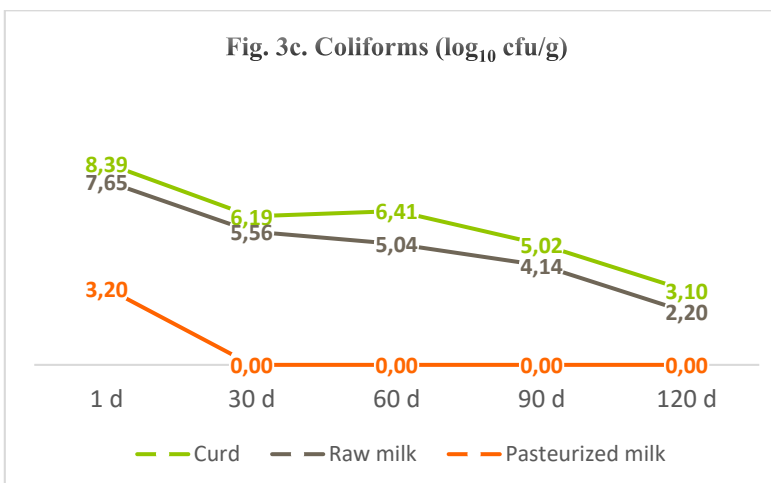
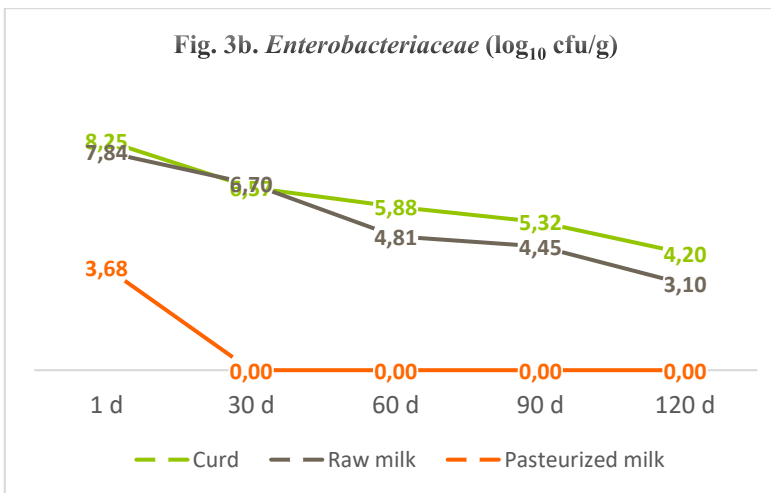
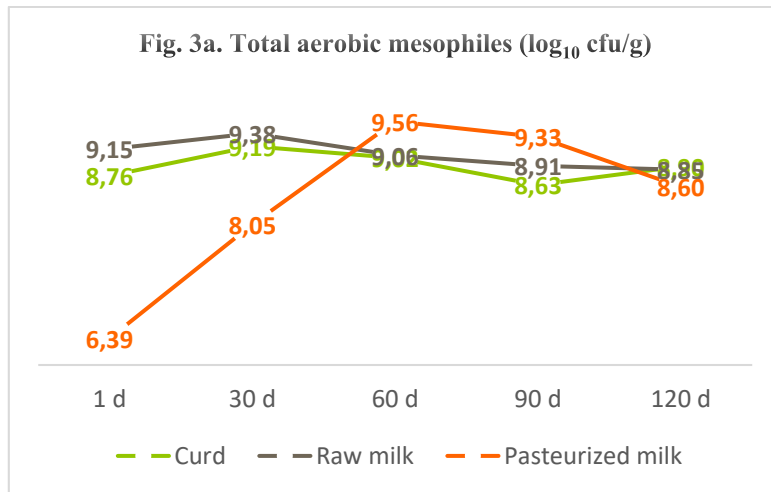
Yeasts and molds counts were found to be considerably higher in retail curd and raw milk samples on the 1<sup>st</sup> and 30<sup>th</sup> d compared to pasteurized milk samples ( $p < 0.05$ ). In the following period, the numbers were found to be similar in all three samples. The level in raw milk sample was higher than the other two cheeses ( $p < 0.05$ ). The values of the samples decreased by approaching each other at 120<sup>th</sup> d of ripening (Figure 3d).

While the lactobacilli level was found to be quite low (4.73 log<sub>10</sub> cfu/g) in pasteurized milk cheese on the first d compared to the other samples ( $p < 0.05$ ), the values for all three samples were at an

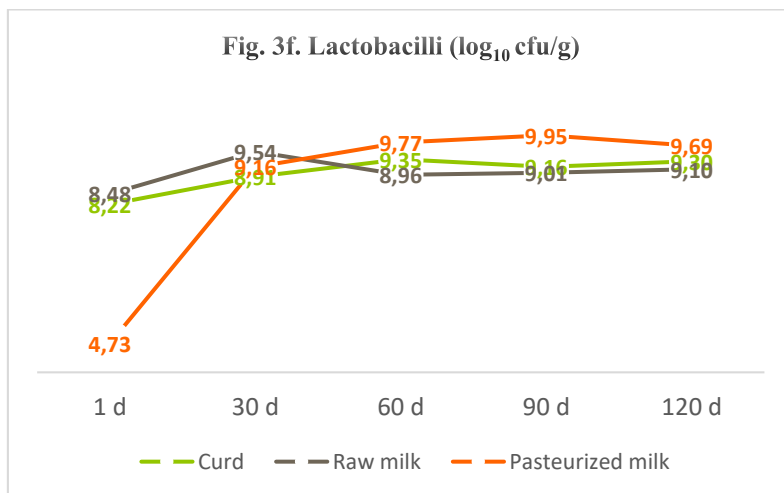
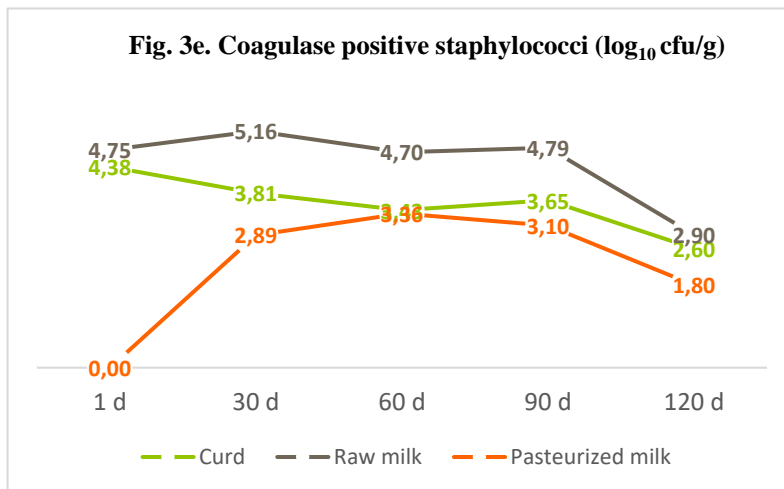
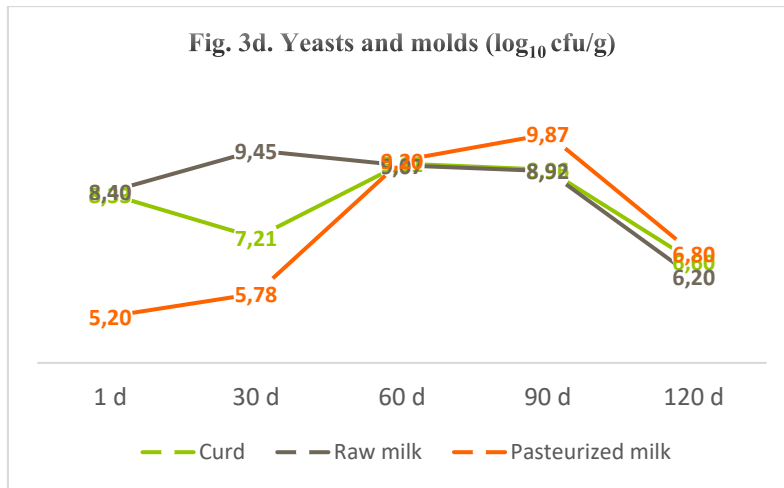
approximate level on the further analysis d. It was observed that lactobacilli level in pasteurized milk samples was higher than that of other two cheese samples at 60<sup>th</sup> d (Figure 3f).

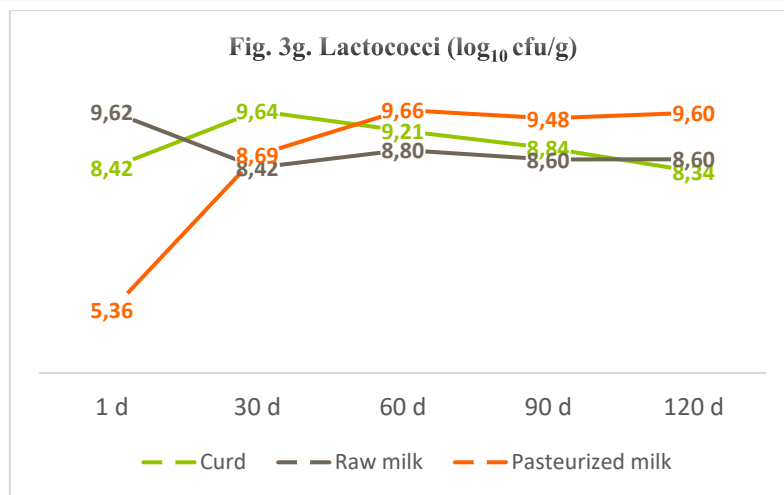
While the count of lactococci were determined to be quite low (5.36 log<sub>10</sub> cfu/g) in pasteurized milk samples on the first d (p<0.05), as was in lactobacilli counts, on the other analysis days, the values of all three samples were at an approximate level. It was observed that the level in pasteurized milk samples was higher than that of other two cheese samples at 60<sup>th</sup> d. Although the 1<sup>st</sup> d level of lactococci was higher than that of lactobacilli, similar levels were observed in the following ripening d (Figure 3g).

**Figure 3 (a,b,c,d,e, f, g).** Values of microbiological analyzes in 120-d cold storage in Siirt herby cheese samples produced by using retail curd, and also raw milk and pasteurized sheep's milk.









**Table 3:** The standard deviations ( $\pm$ SD) of values given at Figure 3.

Figure no.	Cheese / ripening d	1	30	60	90	120
<b>Fig. 3a.</b> Total aerobic mesophiles (log <sub>10</sub> cfu/g)	Retail curd cheese	0,34	0,31	0,22	0,16	0,34
	Raw milk cheese	0,26	0,14	0,41	0,37	0,27
	Pasteurized milk	0,18	0,33	0,25	0,21	0,23
<b>Fig. 3b.</b> <i>Enterobacteriaceae</i> (log <sub>10</sub> cfu/g)	Retail curd cheese	0,13	0,23	0,41	0,33	0,21
	Raw milk cheese	0,32	0,34	0,21	0,24	0,11
	Pasteurized milk	0,11	0,24	0,18	0,21	0,00
<b>Fig. 3c.</b> Coliforms (log <sub>10</sub> cfu/g)	Retail curd cheese	0,27	0,31	0,27	0,16	0,21
	Raw milk cheese	0,34	0,12	0,24	0,12	0,19
	Pasteurized milk	0,22	0,30	0,00	0,00	0,00
<b>Fig. 3d.</b> Yeasts and molds (log <sub>10</sub> cfu/g)	Retail curd cheese	0,21	0,23	0,41	0,29	0,34
	Raw milk cheese	0,32	0,40	0,44	0,39	0,42
	Pasteurized milk	0,16	0,32	0,30	0,33	0,18
<b>Fig. 3e.</b> Coagulase + staphylococci (log <sub>10</sub> cfu/g)	Retail curd cheese	0,16	0,21	0,23	0,11	0,13
	Raw milk cheese	0,23	0,20	0,20	0,23	0,21
	Pasteurized milk	0,30	0,34	0,17	0,20	0,20
<b>Fig. 3f.</b> Lactobacilli (log <sub>10</sub> cfu/g)	Retail curd cheese	0,34	0,41	0,38	0,70	0,63
	Raw milk cheese	0,30	0,50	0,36	0,47	0,26
	Pasteurized milk	0,22	0,21	0,44	0,44	0,33
<b>Fig. 3g.</b> Lactococci (log <sub>10</sub> cfu/g)	Retail curd cheese	0,43	0,54	0,51	0,29	0,33
	Raw milk cheese	0,40	0,51	0,45	0,37	0,51
	Pasteurized milk	5,36	0,27	0,39	0,40	0,37

#### 4. DISCUSSION AND CONCLUSION

It is well known that factors such as breed, age, race, season, diet of dairy animal are effective on the milk composition. Also, milk composition and all the other applications of cheese making are effective on the cheese characteristics (19). Since the change made in each of these factors causes significant changes in the cheese, so many cheese varieties have been able to be produced. For production of a cheese variety, the effects of many factors separately and/or in combinations on its determinative characteristics have to be taken into consideration during the process. The cheeses traded must be produced in accordance with the standards established by official regulations (5,11-13,43,46).

In the Herby Cheese Standard (43), it is stated that rate of milk fat in dry matter has to be at least 45%, humidity at most 60% and salt at most 7.5%. The minimum, (average) and maximum values of this cheese in the geographical indication document of Van herby cheese are listed as follows: Dry matter (%) 43.81 (46.78) 47.78, protein (%) 20.60 (22.17) 25.52, fat (%) 16.75 (17 .29) 19.21, ash (%) 5.07

(6.85) 7.45, salt (%) 4.60 (5.73) 6.9. When it is classified in terms of % Moisture (in fat free dry matter) in cheese standards, herby cheese has been reported to be from the group of semi-hard cheeses that fall between 57-64% (5). A fully demonstrated process follow-up instruction for making herby cheese including critic control points such as curd break point, press end point, packaging point, and also critic limits such as acidity, pH, dry matter, salt levels at the critic control points has not been documented yet. Van herby cheese is currently being produced and sold by many large companies in Türkiye. However, we could have no information about their production processes. It can be proposed that each company is free for development its own process parameters and the production is made in accordance with the regulations. Although there are many scientific studies conducted on this subject, a complete process definition has not yet been revealed as a result of these studies. Also, this study is a narrowly comprehensive study focused on the pasteurization of sheep's milk only. It may be concluded for this situation that a full scientific study is needed for documentation of a complete herby cheese producing process.

In a study that we compared together with the findings of our own study by previously made studies conducted on herby cheeses, and it was revealed that most of the herby cheeses on sale do not comply with the regulations (51). The production and sale of these cheeses, which are traditionally produced by local people, should be made in accordance with the regulations. In our opinion, the most effective public health measure that can be applied in the current conditions is to prevent the production of raw milk cheese by producers who do not comply with the Special Hygiene Rules Regulation for Animal Food (11) and Microbiological Criteria Regulation (12). It would be a good decision to impose the obligation to pasteurize milk to such enterprises. Because in order to make raw milk cheese, it is necessary to use the milk of animals free from disease and ripening period have to be minimum 4 mo. as mentioned in Cheese Regulation (13). Akyüz and Kurt (52) have reported in 1984 that primitive conditions should be abandoned and production should be carried out in modern factories.

Since we could not come across to a complete process definition, we only followed regulatory parameters for making Siirt herby cheese (5,11-13,43,46). In order for us to take one of the previous studies as a reference, our other parameters should have been similar to those in the reference study. For this reason, we decided to use our own process parameters and our own method with the condition of complying with the regulations. So, pasteurisation of the bulk milk was made at 72°C for 3 min. Coagulation was made at 35 °C for 40 min. The clot was cut into 1x1x1 cm as made by Ocak et al. (38) and waited for 30 min for clot hardening. The clot was added in a press cloth and the press material was put on the curd for 60 min as make it standard for all the samples. The press weight was determined as the rate of 70 % of total weight of each portion milk used for making each part of the curd samples. The press was applied 60 min before salting and 90 min after salting to make a good drainage from the curd samples. We applied dry salting to the crumbled curd and salt was used at a 3% of curd weighed after the first pressing. At the end of many preliminary studies, we realized to follow the parameters of pH between 5.5-6.0 and lactic acid between 0.3-0.5 in the curd before salting, minimum pH of 4.5 and maximum 1% lactic acid, humidity maximum 50%, the protein minimum 20% and the fat minimum 20% in cheese after 120 d of ripening. The parameters followed in this study for making Siirt herby cheese has to be confirmed in comparison with other process parameters that effect the resultant cheese regulatory parameters.

According to the Regulation on supply of raw milk (53), which is required for raw milk trade, animals must be free from disease. Also, milk has to be cooled to 4°C and below immediately after milking and the temperature during transport should not exceed 4°C. The supply of raw milk to the final consumer is carried out within 24 hours after milking. If raw milk obtained from other species other than cow's milk is to be used in the production of raw milk cheese without any heat treatment, the TAMB grown at 30°C in per ml of the milk have to be  $\leq 500,000$  (11). Most of the herby cheeses are made with the sheep's' milked in the highlands in the form of herby cheese curd in Siirt. Raw milk curd is produced by clotting the milk at milking temperature after draining from strainer cloth. The drained curd is brought to the provincial and district centres in sacks and then sold in the same d or other d. Individuals or small outlet owners buy these retail curds and process it into herby cheese for household use or sale. It was determined in this study that the number of TAMB in the raw milk was as high as 6.77 log<sub>10</sub> cfu/ml (Table 1). It can be difficult to obtain milk with the desired bacterial load in existing sheep barns and by

hand milking. For these reasons, it is inevitable that the cheese produced from raw milk or retail curd cheese. It has been pointed out in previously made studies that Siirt herby cheese on sale have not met the regulatory criteria (6,23,24,27,51). We have also determined in this study that both raw milk and retail curd may not ensure the minimum hygiene requirements (Figure 3).

In this study, it was observed that acidity development continued with pH decrease in the samples during ripening (Figure 2a, 2b). This change occurred in the pasteurized milk samples as well as retail curd and raw milk samples. Although the microorganisms causing these changes were not extensively investigated in this study, it was determined that the numbers of lactic acid bacteria and lactic streptococci increased in all three types of cheese during the ripening period (Figure 3f, 3g). However, we did not use any microbial culture for ripening, natural microbiota presented in the samples or secondary contaminated microorganisms could have pH and acidity development in all the samples. Ripening microbiota in the pasteurized milk samples may have come from the herbs used, and/or from raw milk flora that survived pasteurization and/or microorganisms transmitted by secondary contamination during cheese making. In a previous study, the pH of herby cheese has been stated to be decreased from 4.89 to 4.52 and the acidity (% lactic acid) increased from 0.62 to 1.05 during the 90-d ripening period (54). Emirmustafaoğlu and Coçkun have demonstrated significant differences from goat's cheese than that of cow's and ewes' cheese (55).

Tuncturk et al. (21) have prepared cheese samples by both raw milk and pasteurized milk. According to the changes recorded in the ripening period, it has been reported that difference in bulk milk do not adversely affect the products chemical composition, and pasteurized milk cheeses have been found to have harder structure. We also could not have determined a difference between raw and pasteurized milk samples. More research could be needed for making a net decision on the matter.

Although the production methods of herby tulum cheese is different, its composition and physical appearance are resembling to Tulum (leather bottle) cheese. The humidity rate has been regulated to be maximum 45% for full fat Tulum cheese and maximum 50% for low-fat and fat-free Tulum cheese (13). The minimum, (average) and maximum dry matter (%) values in the Geographical Indication Certificate of Van herby cheese are as follows: 43.81 (46.78) 47.78. In a previously made study made by us and also in this study we determined dry matter mean values close to 45% (Figure 2c) (51). We experienced in this study that the cheese could be more wet and sticky when the dry matter was as high as 60%. However, in the Herby Cheese Standard, humidity rate has been regulated as maximum 60% (43). This value is the same as the value of white cheese (13). It has been reported that Van herby cheese is produced similarly to white cheese in commercial production enterprises, the moisture rate in the cheese is high, and therefore it would be more appropriate to call these cheeses as herby white cheese instead of Van herb cheese (20). Thus, dry matter or humidity regulations for herby cheese could be reconsidered.

A maximum salt content in the dry matter of Tulum cheese is regulated as 5% (13). It is understood that the salt in Tulum cheese should be maximum 2.25%. Nevertheless, salt value has been regulated as maximum 7.5% in the Herby Cheese Standard (43), and also as 6.9% in the geographical indication document for Van herby cheese. In this study, dry salting was done by adding 3% of salt to the pressed curd as similar manner as the traditional method. So, the salt ratios the cheese samples have been determined to be higher than 2.25%. In most of the previously made studies, the salt rate from the retailed cheeses examined by us and other researchers have been generally higher than 5% (51). Because in our face-to-face interviews, people who produce herby cheese reported that they need more salt to prevent the cheese from spoilage. The salt content of the cheese at retail have to be decreased for public health. The salt content has already been reduced in other cheese varieties (13, 46).

In the Regulation on Turkish Food Codex Microbiological Criteria (12), it has been reported that the number of *Enterobacteriaceae* in pasteurized drink milk can be maximum 10 cfu/ml as a hygiene criterion. There are no coliform and coagulase positive staphylococcal values for pasteurized milk in the Regulation. In this case, it could be understood that these two microorganisms should not be present in pasteurized milk. As can be seen in Table 1, the numbers detected in all analysed microorganism were quite high. It has been revealed in the studies that the products on sale that are analysed have a high microorganism load and do not comply with the standards (51). The TAMC count in raw milk used in

this study have been determined to be  $6.77 \log_{10}$  cfu/ml, and was higher than 500.000 / ml level which is stated in the Regulation (11) and Regulation on Turkish Food Codex Microbiological Criteria (12). Also, coagulase positive staphylococci are allowed to be a maximum  $10^3$  cfu/g in in Tulum cheese (12).

The total mesophilic aerobic bacteria, coliforms and yeasts and molds counts determined in this study have not been stated in the Regulation (12). These analyses were made for a possibility of use in next process development studies. When Table 1 and Figure 3 are comparatively examined, it could be understood that the hygienic quality of the samples has been improved by using pasteurized milk, since counts of *Enterobacteriaceae*, coliforms and coagulase positive staphylococci were lower than that of raw milk and retail curd cheese samples. The reason for the presence of microorganism load in cheese samples above the standard values reported above may be that the samples were made with traditional methods. Drain cloth, strainer, utensils and other materials used in the study were used without sterilization and only by washing with tap water to mimic the traditional way. Under controlled production conditions, it is possible to reduce these values below the levels allowed in the standards. For this, the milk must be pasteurized and the materials used must be pasteurized or sterilized. The hygiene of the coagulant used should also be checked. Starter culture and/or ripening culture can be used to provide early acidity development and pH reduction in cheese. However, new studies are needed to obtain such microbial cultures.

Tunçtürk et al. (21) have made Van herby cheese by using raw and milk and brine salted the samples. A decrease of 1  $\log_{10}$  cfu/g in the TAMB on the 30<sup>th</sup> d of the ripening period has been documented. Also, coliforms ( $\log_{10}$  cfu/g) has been decreased from 7 to 5.41 on the 30<sup>th</sup> d, 3.85 on the 60<sup>th</sup> d, 2.45 on the 90<sup>th</sup> d and to uncountable level on the 120<sup>th</sup> d. In this study, the initial bacterial levels were found to be high, similar to the researchers' findings. In parallel to the findings of the researchers, we were also determined high counts of the microorganisms from the 1<sup>st</sup> d of the ripening. However, unlike the findings of other researchers, it was observed in this study that the numbers of coliforms and coagulase positive staphylococci in the samples decreased to acceptable levels ( $10^2$ - $10^3$  cfu/g) after 60<sup>th</sup> d of the ripening (Fig. 3d, 3f).

Yeasts and molds counts were found to be high in our study and other previously made studies (Fig 3e) (51). When the situation that the number of yeasts and molds gradually increases during the ripening period is accepted as certain, it may be necessary to bring a new interpretation with a new perspective on the acceptance of this parameter as a criterion in hygiene monitoring. More research on this subject should be done to reveal the positive and negative aspects of yeasts and molds growth.

As a result, the positive effect of pasteurization in terms of hygiene assurance was determined. Hygiene may be difficult for producing herby cheese by using retail curd or raw ewe's milk. Regulative standards about moisture and salt content for the herby cheese could be valuable if are reevaluated. Since not a fully informative regulatory or another published process schematic has not been documented yet, initial studies such as this study could be more valuable for future studies. This study alone is not enough to propose process parameters, critical control points and critical limits. Nevertheless, accessing the following parameters can be considered as the basic process parameters for further studies. In the process development studies for Siirt herby cheese, following parameters may be valuable to evaluate complex studies including multi-variable parameters. By this way, homogeneity of the future studies may be increased. Then, making new inferences from the results of the studies may be easier. We propose pH between 5.5-6.0 and lactic acid value between 0.3-0.5 in curd before salting, minimum pH of 4.5 and maximum 1% lactic acid in cheese after 120 days of ripening. For full-fat Tulum cheese, it would be appropriate to develop an appropriate process so that the humidity is at most 50%, the protein at least 20% and the fat at least 20%. It may probably be the first time that these values, which are not included in the regulations, are proposed by us.

### Acknowledgment

We thank to Siirt University Scientific Research Projects Coordination (BAP) Unit for their efforts and the monetary funds. This research was a part of the project supported by Siirt University within the scope of SIU specialization projects (Project No. 2021-SIUHT-VET-06).

**Conflict of Interest**

The authors declare no conflict of interest.

**References**

1. Dinçkal F. Anadolu Peynirleri. 2015; E-Kitap, 59 s. İnternet erişimi. Erişim tarihi: 10/10/2022.
2. Karaca OB. Geleneksel peynirlerimizin gastronomi turizmindeki önemi. *Journal of Tourism and Gastronomy Studies* 2016; 4(2): 17-39 (article in Turkish with an English abstract).
3. Durlu Özkaya F, Gün İ. Anadolu'da Peynir Kültürü. ICANAS 38 Uluslararası Asya ve Kuzey Afrika Çalışmaları Kongresi, Eylül, 10-15, 2007; Ankara-Türkiye.
4. Demirhan Ö, Cihangir E. Van otlı peynirinin geleneksel üretim hikayesi. *J Tourism and Gastronomy Studies* 2021; 9(3): 2286-2319. DOI: 1021325/jotags2021893.
5. Anon. Van Otlı Peyniri Menşe Tescili. Van Sanayi ve Ticaret Odası 2018; Van-Türkiye.
6. Doğan N. Siirt ilinde üretilen Siirt otlı peynirinin bazı özelliklerinin belirlenmesi, Yüksek lisans tezi, Harran Üniv. Fen Bil. Ens, Şanlıurfa 2012, 108s (thesis in Turkish with an English abstract).
7. İzmen ER, Kaptan N. Doğu illerinde yapılan mahalli peynirlerden otlı peynirler üzerine araştırmalar. *Ankara Üniv Ziraat Fakültesi Yayınları* 1996; 45 s, Ankara-Türkiye.
8. Hayaloglu AA, Fox PF. Cheeses of Turkey: 3 varieties containing herbs or spices. *Dairy Science and Technology* 2008; 88: 245-325.
9. Örmeci Kart MÇ, Demircan V. Dünya'da ve Türkiye'de süt ve süt ürünleri üretimi tüketimi ve ticaretindeki gelişmeler. *Akademik Gıda* 2014; 12(1): 78-96 (article in Turkish with an English abstract).
10. Ünsal A. Süt Uyuyunca - Türkiye Peynirleri. Yapı Kredi Yayınları 2003; İstanbul-Türkiye.
11. Türk Gıda Kodeksi- Hayvansal Gıdaların Resmi Kontrollerine İlişkin Özel Kuralları Belirleyen Yönetmelik. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, 2011; Ankara-Türkiye.
12. Türk Gıda Kodeksi- Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği (3 Mükerrer). Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı 2011; Ankara-Türkiye.
13. Türk Gıda Kodeksi- Peynir Tebliği. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı 2015; Ankara-Türkiye.
14. Akkoç Z. Otlı peynirlerde histamin düzeyi ve mikrobiyolojik kalitenin araştırılması. Yüksek lisans tezi. Fırat Üniv Sağlık Bil Ens Elazığ 2016; (thesis in Turkish with an English abstract).
15. Ocak E, Köse Ş. Van otlı peynirinin üretimi ve mineral madde içeriği. *Gıda* 2016; 40(6): 343-348 (article in Turkish with an English abstract).
16. Gülmez M, Güven A, Çetinkaya A. Kars'ta tüketime sunulan taze ve salamura beyaz peynirlerinin mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2011; 7(1): 55-62 (article in Turkish with an English abstract).
17. Gülmez M, Güven A. Kars ilinde satışa sunulan çeçil (civil) peynirlerinin bazı mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2001; 7(1): 63-70 (article in Turkish with an English abstract).
18. Gülmez M, Oral N, Güven A, Baz E, Sezer Ç, Duman B. Kars'ta tüketime sunulan kaşar peynirlerinin bazı mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 10(2): 183-188 (article in Turkish with an English abstract).
19. Oğur S, Duruk M. Bitlis otlı peynirinin besin kompozisyonunun ve kimyasal bileşiminin standartlara göre değerlendirilmesi. *Food and Health* 2021; 7(2): 91-102. DOI: 103153/FH21011 (article in Turkish with an English abstract).

20. Coşkun H, Öztürk B. Otlu peynirler adı altında üretilen peynirler üzerinde bir araştırma. Gıda Mühendisliği Dergisi 2021; 10: 19-23 (article in Turkish with an English abstract).
21. Tunçtürk Y, Ocak E, Köse Ş. Farklı süt türlerinden üretilen Van otlu peynirlerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri ile proteoliz profillerinde olgunlaşma sürecinde meydana gelen değişimler. Gıda 2014; 39(3): 163-170 (article in Turkish with an English abstract).
22. Kara S, Köse Ş. Geleneksel yöntemle üretilen otlu peynirlerin bazı kalite özelliklerinin ve biyoaktivitesinin belirlenmesi. Gıda 2020; 45(5): 942-953 (article in Turkish with an English abstract).
23. Koyuncu M, Tunçtürk Y. Evaluation of the quality characteristics of Siirt herby cheese: a traditional Turkish variety. Journal of the Institute of Science and Technology 2020; 10(2): 1023-1029.
24. Şenel E, Yıldız F, Yetişemiyen A, Durlu-Özkaya F, Öztekin FŞ, Şanlı E. Evaluation of the biogenic amine content and some chemical and microbiological properties of Urfa and Van herby cheeses. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 2012; 18 (4): 537-544. DOI: 109775/kvfd20115475.
25. Özer E, Bostan K, Sağun E. Van otlu peynirlerinde mikrobiyolojik kalite ve küf florası. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 1992; 3(1-2): 53-59 (article in Turkish with an English abstract).
26. Hallaç B, Güçer Y, Kılınççeker O, Poyrazoğlu ES. Geleneksel Siirt peynirlerinin mikrobiyolojik kimyasal ve fiziksel özelliklerinin belirlenerek halk sağlığı açısından değerlendirilmesi. ADYÜTAYAM 2021; 9(1): 61-72 (article in Turkish with an English abstract).
27. Ektiren D, Güneş S, Vardın H. Siirt ve çevresinde üretilen otlu peynirlerin fizikokimyasal mikrobiyolojik ve duyu özelliklerinin belirlenmesi. Harran Üniversitesi Mühendislik Dergisi 2020; 5(3): 260-267 (article in Turkish with an English abstract).
28. İşleyici Ö, Akyüz N. Van İlinde satışı sunulan otlu peynirlerde mikrofloranın ve laktik asit bakterilerinin belirlenmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 2009; 20(2): 59-64 (article in Turkish with an English abstract).
29. Güler Z, Türkmen D, Dursun A, Masatcıoğlu MT, Köksal Kavrak M. Farklı ticari rennetlerle peynir pıhtıları üretimi sırasında fiziko-kimyasal, tekstürel ve mikroyapısal nitelikler. Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi 2021; 26(2): 211-227. DOI: 10.37908/mkutbd.830584 (article in Turkish with an English abstract).
30. Tarakci, Z. The effects of packaging materials and filling methods on some characteristics of herby cheese (Otlu peynir). Proceedings of European Congress of Chemical Engineering (ECCE-6). September, 16-20, 2007; Copenhagen-Denmark.
31. Ocak E, Javidipour I, Tunçtürk Y. Volatile compounds of Van herby cheeses produced with raw and pasteurized milks from different species. Journal of Food Science and Technology 2015; 52(7): 4315-4323. DOI 10.1007/s13197-014-1458-8.
32. Köse Ş, Ocak E. Mineral composition of herby cheese produced from raw and pasteurized milk. Applied Ecology and Environmental Research 2019; 17(3): 7189-7201. DOI: [10.15666/aeer/1703\\_71897201](https://doi.org/10.15666/aeer/1703_71897201).
33. Aydın E, Tarakçı Z. Effects of different types of herbs on colour and texture properties of Kashar cheese. Food and Health 2021; 7(2), 120-127. DOI: [10.3153/FH21013](https://doi.org/10.3153/FH21013).
34. Kavaz A, Bakırcı İ, Kaban G. Some Physico-chemical properties and organic acid profiles of herby cheeses. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 2013; 19 (1): 89-95. DOI: 10.9775/kvfd.2012.7242.
35. Babaoglu UT, Ogutucu H, Demir G, Sanli D, Babaoglu AB, Oymak S. Prevalence of *Brucella* in raw milk: An example from Turkey. Niger Journal of Clinical Practices 2018; 21: 907-11.

36. Özbek H, Aksoy H, Uğraş S, Öztürk G, Türkdoğan K, Tuncer İ. Van otlı peynirinin sıçan sindirim sistemi ve bazı kan parametreleri üzerine etkisi. Genel Tıp Dergisi 2015; 15(1): 5-10 (article in Turkish with an English abstract).
37. Durmaz H, Sagun E. Otlı peynirlerin üretim ve olgunlaşma sürelerinin *Listeria monocytogenes*'in üremesi üzerine etkileri. Veteriner Bilimler Dergisi 2004; 20(2): 87-93.
38. İşleyici Ö, Sancak YC. Van otlı peyniri. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi 2005; 8(1-2): 48-58 (article in Turkish with an English abstract).
39. Ocak E, Tunçtürk Y, Javidipour I, Köse Ş. Farklı süt türlerinden üretilen van otlı peynirlerinde olgunlaşma boyunca meydana gelen değişiklikler: Mikrobiyolojik değişiklikler, lipoliz ve serbest yağ asitleri. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi 2015; 25(2): 164-173 (article in Turkish with an English abstract).
40. Andıç S, Tunçtürk Y, Javidipour I, Gençcelep H. Farklı otların otlı peynirin biyojen amin içeriği ve bazı özellikleri üzerine etkisi. Gıda 2015; 40(1): 1-8 (article in Turkish with an English abstract).
41. Ekici K, Okut H, İşleyici Ö, Sancak YC, Tuncay RM. The determination of some microbiological and chemical features in herby cheese. Foods 2019; 11;8(1): 23-34. DOI: 10.3390/foods8010023.
42. Andic S, Gencelep H, Kose S. Determination of biogenic amines in herby cheese. International Journal of Food Properties 2010; 13(6): 1300-1314.
43. Türk Standartları. Otlı Peynir (TS 13205). Türk Standartları Enstitüsü 2016; Ankara-Türkiye.
44. Turkish Standards. Rennet (TS 3844), Turkish Standards Institute 1996; Ankara-Türkiye.
45. Sadler GD, Murphy PA. pH and Titratable Acidity. In: Food Analysis. New York: Springer, p207-225, 2003.
46. Türk Standartları. Beyaz Peynir (TS 591). Türk Standartları Enstitüsü 2013; Ankara-Türkiye.
47. Türk Standartları. Peynir ve İşlenmiş Peynir- Toplam Kuru Madde İçeriği Tayini (TS EN ISO 5534/AC). Türk Standartları Enstitüsü 2014; Ankara-Türkiye.
48. Türk Standartları. Peynir - Yağ Muhtevası Tayini - Van Gulik Yöntemi (TS ISO 3433). Türk Standartları Enstitüsü 2015; Ankara-Türkiye.
49. Türk Standartları. Peynir ve Eritme Peynir Ürünleri- Klorür Miktarı Tayini- Potansiyometrik Titrasyon Metodu (TS EN ISO 5943). Türk Standartları Enstitüsü 2007; Ankara-Türkiye.
50. Pouch DF, Ito K. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Washington DC: American Health Association, 2001.
51. Gülmez M, Yıldız Bayhan K, Üner S. Technical, physical, chemical and microbiological analyses of Siirt herby cheese. Bozok Veterinary Sciences 2022; 3, (2): 33-39.
52. Kurt A, Akyüz N. Van otlı peynirinin yapılışı ve mikrobiyolojik fiziksel ve kimyasal nitelikleri. Gıda 1964; 9(3): 141-146 (article in Turkish with an English abstract).
53. Türk Gıda Kodeksi. Çiğ Sütün Arzına Dair Tebliğ (Tebliğ No: 2017/20). Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı 2017; Ankara-Türkiye.
54. Tekinşen KK. Hakkâri ve çevresinde üretilen otlı peynirlerin mikrobiyolojik ve kimyasal kalitesi. Veteriner Bilimler Dergisi 2004; 20(2): 79-85.
55. Emirmustafaoğlu A, Coşkun H. Keçi sütü inek sütü ve bu sütlerin karışımından yapılan otlı peynirlerde olgunlaşma boyunca meydana gelen değişimler. Gıda 2012; 37(4): 211-218.



**INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF USING BIOCHAR AGAINST IRRIGATION  
WATER SALINITY ON SOME YIELD-RELATED PHYSICAL PROPERTIES OF RADISH  
(*RAPHANUS SATIVUS* L.)**

**Elif YAGANOGLU<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Ataturk University, Faculty of Agriculture, Department of Soil Science, Erzurum, Turkey.*

<sup>1</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5963-3871>*

**Caner YERLI<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>*Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Agriculture, Department of Biosystems Engineering, Van, Turkey*

<sup>2</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8601-8791>*

**ABSTRACT**

Pollution and reduction of freshwater resources have led to the search for alternative water resources for irrigation, which is the most user of freshwater. Since the use of saline water, which is an alternative water source, in irrigation, soil properties are adversely affected and plant yield is reduced, salinity, which is an abiotic stress for the plant, should be overcome in the use of salty water in irrigation. The soil salinity exclusion feature of biochar, an organic regulator, can help the plant overcome this stress factor. Thus, this study aimed to investigate the yield-related physical properties of radish (plant height of the radish, height and diameter of the radish, radish wet weight and flesh firmness of the radish) by mixing different ratios of biochar [0% (control), 1.5% and 3%] into the soil of radish plants irrigated with varying levels of salt water [0.4 (control), 0.8, 1.6 and 3.2 dS m<sup>-1</sup>]. NaCl salt source, which is the most abundant in nature and affects plant growth, was used in the study, which was carried out in a total of 36 pots of 4-liters in greenhouse conditions in completely randomized factorial design design with 3 replications with 4 salinity levels and 3 biochar doses. As a result, it was observed that increased salt stress caused a decrease in the physical properties of radish, but the physical properties were improved with the increasing dose of biochar, and the increased ratio of biochar against salt stress significantly balanced the decrease in physical properties. Thus, according to the results of this study, considering the effectiveness of biochar against irrigation water salinity, it was found to be a recommendable result to mix the ratio of 3% biochar into the soil to reduce the yield losses that may be caused by irrigation with saline water in radish cultivation.

**Keywords:** biochar, irrigation, physical properties, radish, water salinity

**1. INTRODUCTION**

While anthropogenic effects such as increasing population, urbanization and deforestation increase the pressure on freshwater resources, global warming, which is one of the most important risks of today, causes irregular precipitation and increased drought, increasing the severity of the pressure on freshwater resources. This situation causes the production processes to be adversely affected in the agriculture sector, which is the largest consumer of freshwater (Yerli and Sahin, 2022), and subsequently to the emergence of a serious problem such as the food crisis (Abdelaal et al., 2019). For this reason, since the amount of freshwater used in irrigation to meet the food needs of humanity cannot be reduced, it is necessary to carry out irrigation with an alternative water source instead of freshwater and to continue agricultural production in this way.

When an alternative water source is mentioned in irrigation, salty water comes to mind first (Alp and Kabay, 2019). However, salty waters not only adversely affect the physical and chemical properties of the soil but also adversely affect the working conditions of the microorganisms that represent the soil biology, thus preventing the activities of the microbial population that converts nutrients of the soil into

useful forms for plants (Mbarki et al., 2018). Salinity, which is the most common abiotic stress factor, significantly reduces the yield and quality of the plant. In fact, the salinity stress on the plant is directly related to the salinity conditions of the soil. Salty conditions adversely affect plant cells through osmotic and ionic stress and weaken plant growth by reducing the water potential of the cell (Ors and Ekinici, 2015). Therefore, to prevent plant stress and improve yield losses in irrigation with water salinity and therefore soil salinity conditions, arranging the soil to suit plant needs is the best approach to improve yield losses of salt affected plants (Choudhary et al., 2011).

The presence of organic matter in the soil is a very important factor in improving the negative properties of the soil such as salinity. However, if the organic materials added to the soil decompose rapidly and disappear, the organic matter content of the soil does not increase at the desired level. Recently, biochar, obtained as a result of pyrolysis of various organic residues at high temperatures, resists decomposition in the soil and adds significant organic matter to the soil (Yerli et al., 2022). This is because biochar has a large surface area and a high nutrient holding capacity (Lehmann et al., 2021). It is also stated that biochar improves some physical properties of the soil (DeLuca et al., 2006), provides nutrient supplementation to the soil and increases the uptake of nutrients (Zheng et al., 2013), and improves plant yield and quality (Major et al., 2010).

Removing the soluble salts that irrigation water salinity provides to the soil from the soil solution is the most impressive and practical approach to salt stress (Saifullah et al. 2018). Biochar, which is an organic regulator for soil, is a practical application that regulates soil salinity and increases water availability with its ability to increase K, Ca and Mg demand in soil solution and to filter soluble salts from the root zone of the plant (Kul et al., 2021). Thus, biochar can reduce the effects of salinity stress by reducing salt ingress into the physiological structure of the plant. In addition, with its high adsorption capacity, biochar acts as a natural soil conditioner in the reclamation of saline soils or irrigation with salty waters (Thomas et al., 2013).

Radish (*Raphanus sativus* L.), one of the oldest vegetables on the earth's surface, belongs to the Brassicaceae (Cruciferae) family. Radish, which has an important place in meeting the need for fresh vegetables, is not only rich in nutrients but also directly used in medical fields. The radish plant, which can be grown in every period, has great importance among the vegetables produced, consumed and exported in Turkey (Akan et al., 2013). Radish does not show a very selective feature in terms of soil demand. However, it is a plant that responds very sensitively to salinity, although it shows better growth in light-textured, sandy and loamy soils and in conditions where the pH range is 6.0-7.4 pH in general (Solmaz and Sari, 2013).

## 2. MATERIAL and METHODS

The study was carried out as a pot experiment in a completely randomized factorial design with 3 replications. In the study, which was carried out in 4-liter pots in a greenhouse belonging to the Ataturk University, Faculty of Agriculture, 3 different doses of biochar as B0: 0% (control), B1: 1.5% and B2: 3% were mixed into the soil based on weight, against 4 different irrigation water salinity as I1: 0.4 dS m<sup>-1</sup> (control), I2: 0.8 dS m<sup>-1</sup>, I3: 1.6 dS m<sup>-1</sup> and I4: 3.2 dS m<sup>-1</sup> with electrical conductivity. Thus, during the study period carried out in 36 pots (3 replications × 3 biochar doses × 4 irrigation water salinity), the mean temperature and humidity values of the greenhouse were 27±4°C and 44±5%.

The soil used in the study was determined to have a clay-loam texture (sand: 30.8, silt: 31.3, clay: 37.9) according to the USDA classification. According to the total nitrogen (Nelson and Sommers, 1982) and organic matter (Bremner and Mulvaney, 1982) analyses, the nitrogen (0.089%) and organic matter (1.17%) contents of the soil are low, and electrical conductivity and pH measurements of the study soil made with EC-meter and pH-meter, respectively, show no-salt (0.522 dS m<sup>-1</sup>) and near the neutral property (7.13).

Air-dry soils, sieved through a 4 mm sieve, were homogeneously mixed with biochar at the specified ratios and transferred to the pots by weighing them with the help of scales. Sand-gravel material was placed at the bottom of each pot to improve drainage. Radish seeds sown as 6 in pots were diluted to 3 after the emergence period. The plant material used in the study was cherry belle (hazelnut) radish and also biochar material was obtained from commercial companies.

While the control water used as irrigation water was supplied as tap water, 99.5% pure NaCl with high solubility was used in the preparation of saline irrigation water because it is the most abundant salt source in nature and the salt that affects plant growth most significantly. Each of the salty waters with different electrical conductivity was dissolved in plastic containers before each irrigation and prepared for irrigation.

With the planting, all pots were completed to field capacity (pot capacity) with the equal irrigation water level, according to the pot capacity determined in the control application (B0) based on weight in the first irrigation. While irrigation was carried out with tap water (control) in order not to create stress on the plants during the period from germination to the completion of the formation of young leaves, after this stage, irrigations were continued until harvest based on the specified salinity levels.

While the heights of the harvested radish plants were measured with a tape measure, the heights and diameters of the radish were determined by measuring with a digital caliper. After the wet weights of the same radishes were determined by weighing them with scales, a penetrometer device was used to determine the flesh firmness of the radishes.

After the data obtained were analyzed with the General Linear Model, taking into account 3 replications, 3 biochar applications and 4 irrigation water salinity in the SPSS statistical program (Ver. 21), the significant means were separated by the Duncan Multiple Range Test at 5% significance level by the same program.

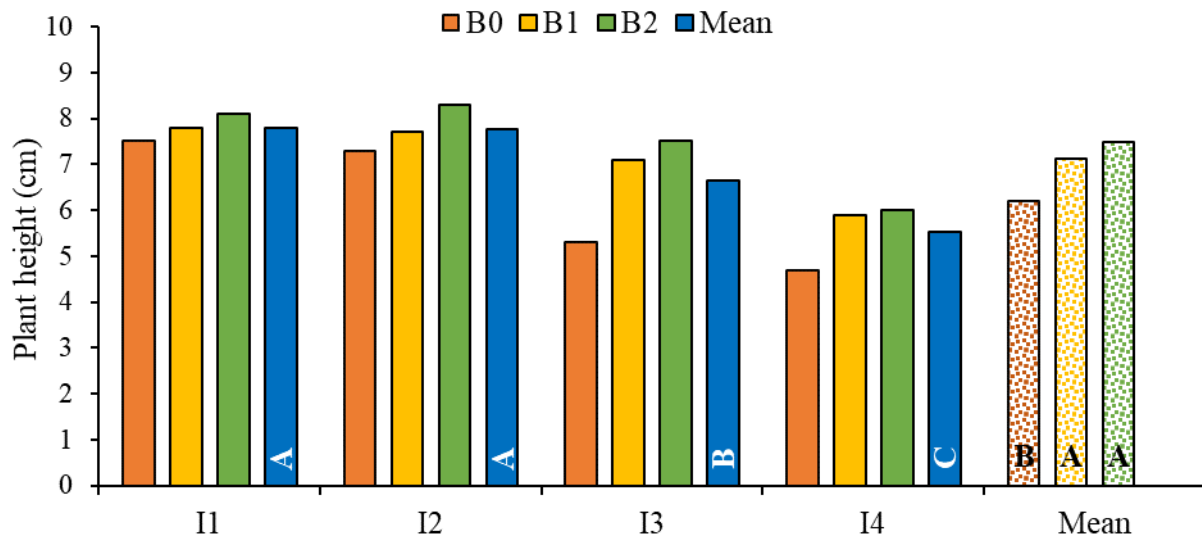
### 3. RESULTS and DISCUSSION

The effects of changing irrigation water salinity levels and the use of biochar at different ratios on the yield-related physical properties of radish were statistically significant at the  $p < 0.01$  level (Figure 1-5). While plant height of the radish, height and diameter of the radish, radish wet weight and flesh firmness of the radish decreased with increasing irrigation water salinity, these physical properties related to radish yield increased with biochar applications. The biochar application against irrigation water salinity improved plant height of the radish, height and diameter of the radish, radish wet weight and flesh firmness of the radish parameters related to radish yield.

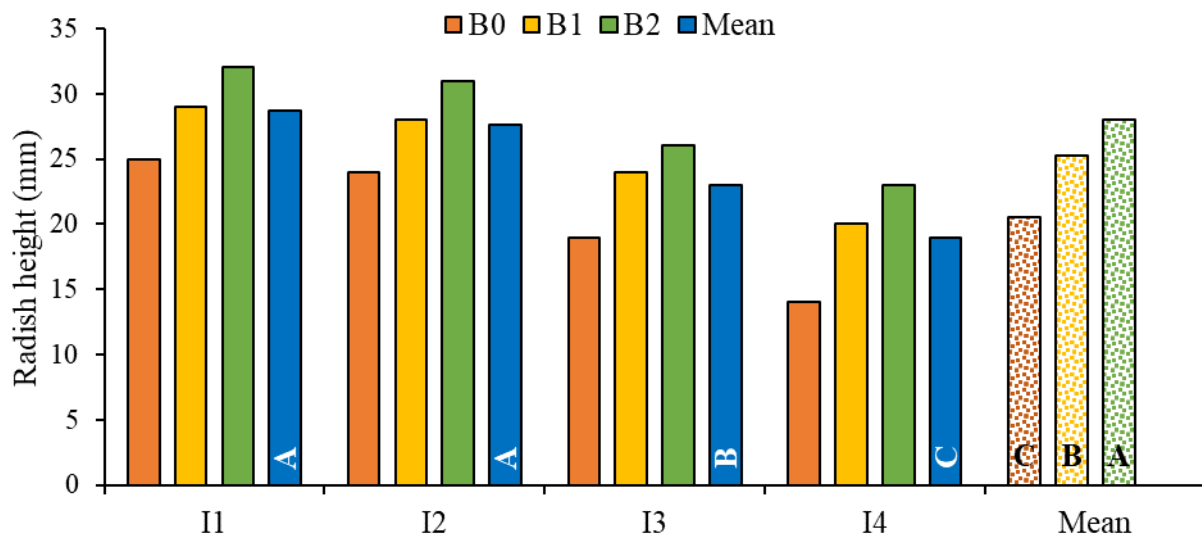
Salt stress is the factor that most affects plant productivity among abiotic stresses (Santos et al., 2012). Salt stress has a negative effect on plant growth, development and productivity by preventing plants from taking water and limiting nutrient uptake accordingly (Dasgan et al., 2002). Thus, the plant's inability to receive sufficient water leads to the weakening of the physical properties of the plant. The imbalance of ions taken from plant roots with water and the accumulation of sodium in the tissues and its toxic effect cause some developmental disorders in the plant and insufficient root-stem development (Yakit and Tuna, 2006). Thus, the reduction in root and stem development of the plant under salt stress limits the production of dry matter in the shoots and results in a decrease in the wet weight of the plant (Dasgan et al., 2002; Ghoulam et al., 2002). Increasing sodium concentration in the root zone of the plant competes with other nutrients and limits the uptake of nutrients needed by the plant from the soil (Fageria, 2001). In addition, the salt stress that the plant encounters during the growth stage may negatively affect the photosynthesis function and cause less energy production and physical properties to remain unfinished (Santos et al., 2012). When all these are evaluated, it can be explained that the yield-related physical properties of radish (plant height of the radish, height and diameter of the radish, radish wet weight and flesh firmness of the radish) decreased under increasing irrigation water salinity conditions (Figure 1-5).

Biochar provides increased plant growth with its large surface area and retains more nutrients (Lehmann et al., 2021). Biochar improves plant growth by trapping ionic nutrients such as ammonium and phosphate (Yao et al., 2012) and providing other nutrients also, especially nitrogen and organic matter, to the soil encouraging the plant to show improved growth under stress conditions (Shrestha et al., 2013). Nutrients added to the soil externally reduce the salt concentration and show a protective feature of the plant against salt stress (Hasegawa and Bressan, 2000). Considering that the organic carbon supplied to the soil improves the plant biomass, biochar regulates the functions of plant physiology by providing organic carbon to the soil in salty conditions (Ali et al., 2017). Liu et al. (2013) stated that biochar added to the soil enriches the soil with organic matter and nutrients, increasing the plant's water and nutrient uptake. In addition, biochar has the ability to increase the demand for K, Ca and Mg in the soil solution

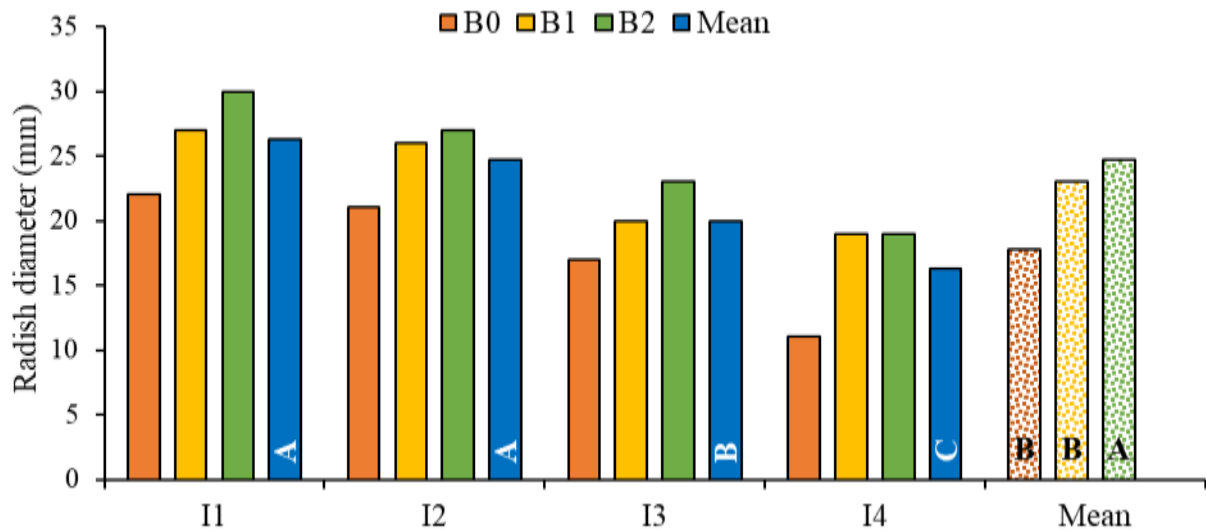
and improve the yield as a result of leaching soluble salts from the root zone of the plant and regulating soil salinity (Kul et al., 2021). In addition to all these, considering the improvement of the spaces between soil aggregates by biochar (Yerli et al., 2022), this feature of biochar may improve the pores in the soil that increase useful water retention and enable the plant to overcome salinity with better water uptake. When all these are evaluated, it can be explained that the yield-related physical properties of radish (plant height of the radish, height and diameter of the radish, radish wet weight and flesh firmness of the radish) increased under the conditions of application of increasing ratios of biochar to the soil, and also that the effectiveness of the use of biochar against irrigation water salinity to improve the physical properties of radish (Figure 1-5).



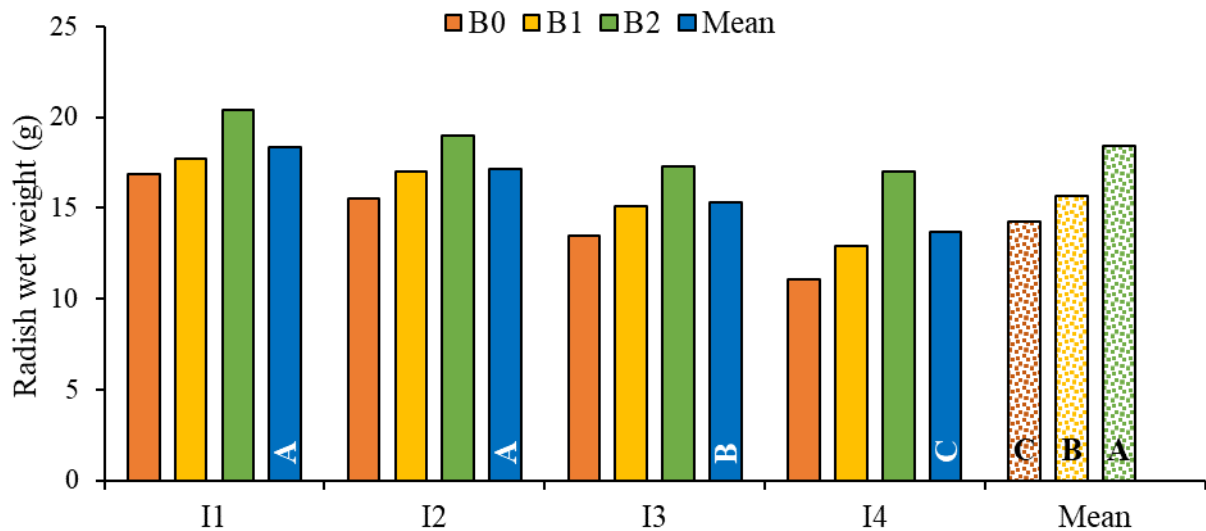
**Figure 1.** The effect of using different ratios of biochar against varying irrigation water salinity on plant height [I1: 0.4 dS m<sup>-1</sup> (control), I2: 0.8 dS m<sup>-1</sup>, I3: 1.6 dS m<sup>-1</sup>, I4: 3.2 dS m<sup>-1</sup> as irrigation water salinity levels and B0: 0% (control), B1: 1.5%, B2: 3% as biochar ratios] ( $p < 0.01$ ).



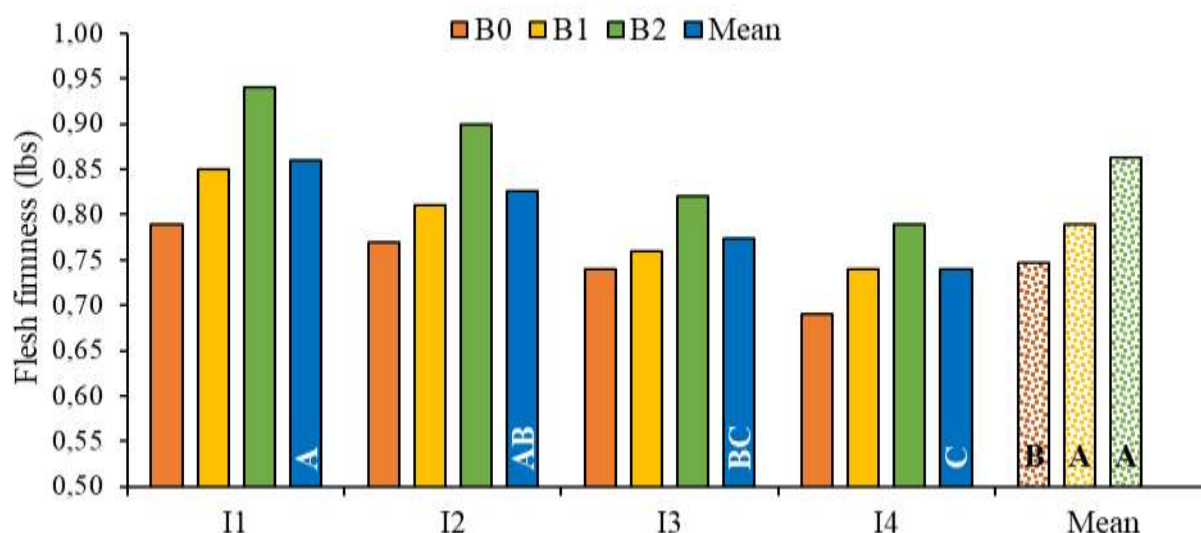
**Figure 2.** The effect of using different ratios of biochar against varying irrigation water salinity on radish height [I1: 0.4 dS m<sup>-1</sup> (control), I2: 0.8 dS m<sup>-1</sup>, I3: 1.6 dS m<sup>-1</sup>, I4: 3.2 dS m<sup>-1</sup> as irrigation water salinity levels and B0: 0% (control), B1: 1.5%, B2: 3% as biochar ratios] ( $p < 0.01$ ).



**Figure 3.** The effect of using different ratios of biochar against varying irrigation water salinity on radish diameter [I1: 0.4 dS m<sup>-1</sup> (control), I2: 0.8 dS m<sup>-1</sup>, I3: 1.6 dS m<sup>-1</sup>, I4: 3.2 dS m<sup>-1</sup> as irrigation water salinity levels and B0: 0% (control), B1: 1.5%, B2: 3% as biochar ratios] (p<0.01).



**Figure 4.** The effect of using different ratios of biochar against varying irrigation water salinity on radish wet weight [I1: 0.4 dS m<sup>-1</sup> (control), I2: 0.8 dS m<sup>-1</sup>, I3: 1.6 dS m<sup>-1</sup>, I4: 3.2 dS m<sup>-1</sup> as irrigation water salinity levels and B0: 0% (control), B1: 1.5%, B2: 3% as biochar ratios] (p<0.01).



**Figure 5.** The effect of using different ratios of biochar against varying irrigation water salinity on flesh firmness [I1: 0.4 dS m<sup>-1</sup> (control), I2: 0.8 dS m<sup>-1</sup>, I3: 1.6 dS m<sup>-1</sup>, I4: 3.2 dS m<sup>-1</sup> as irrigation water salinity levels and B0: 0% (control), B1: 1.5%, B2: 3% as biochar ratios] ( $p < 0.01$ ).

#### 4. CONCLUSION

This study, which investigated the effects of mixing different doses of biochar into the soil of the radish plant under increasing irrigation water salinity conditions on yield-related physical properties of radish, resulted in a decrease in plant height of the radish, height and diameter of the radish, radish wet weight and flesh firmness of the radish with increasing irrigation water salinity and in an increase in these physical properties with increasing biochar applications. As the result of the study shows that the effectiveness of biochar against irrigation water salinity is positive, it has been revealed that salt water can be used in irrigation in radish cultivation as a protective action for freshwater resources, and mixing biochar into the soil to reduce yield losses caused by salt stress can prevent the negative effects that may occur in the quality and productivity of radish. In the light of the data obtained from the study, it was found that it is advisable to mix the ratios of 3% biochar to the radish soil grown by irrigation with salt water but to carry out more comprehensive and long-term studies on this subject.

#### 5. REFERENCES

- Abdelaal, K. A., EL-Maghraby, L. M., Elansary, H., Hafez, Y. M., Ibrahim, E. I., El-Banna, M., El-Esawi, M., & Elkelish, A. (2019). Treatment of sweet pepper with stress tolerance-inducing compounds alleviates salinity stress oxidative damage by mediating the physio-biochemical activities and antioxidant systems. *Agronomy*, 10 (1), 26.
- Akan, S., Veziroglu, S., Ozgun, O., & Ellialtioglu, S. (2013). Evaluation of radish (*Raphanus sativus* L.) and the using of this vegetable as functional foods. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 23 (3), 289-295.
- Ali, S., Rizwan, M., Qayyum, M. F., Ok, Y. S., Ibrahim, M., Riaz, M., Arif, M. S., Hafez, F., Al-Wabel, M., & Shahzad, A. N. (2017). Biochar soil amendment on alleviation of drought and salt stress in plants: a critical review. *Environmental Science and Pollution Research*, 24 (14), 12700-12712.
- Alp, Y., & Kabay, T. (2019). The effect of drought stress on antioxidative enzyme and nutrient exchange in some tomato genotypes. *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences*, 6 (1), 71-77.
- Bremner, J. M., & Mulvaney, C. S. (1982). Nitrogen-Total 1. *Methods of Soil Analysis, Part 2, Physical and Mineralogical Methods*. Ed: A. Klute. Agronomy Society of America and Soil Science Society America, USA.
- Choudhary, O. P., Grattan, S. R., & Minhas, P. S. (2011). *Sustainable Crop Production Using Saline and Sodic Irrigation Waters. Alternative Farming Systems, Biotechnology, Drought Stress and Ecological Fertilisation*. Ed: E. Lichtfouse. Springer, Holland.

- Dasgan, H. Y., Aktas, H., Abak, K., & Cakmak, I. (2002). Determination of screening techniques to salinity tolerance in tomatoes and investigation of genotype responses. *Plant Science*, 163 (4), 695-703.
- DeLuca, T. H., MacKenzie, M. D., Gundale, M. J., & Holben, W. E. (2006). Wildfire-produced charcoal directly influences nitrogen cycling in ponderosa pine forests. *Soil Science Society of America Journal*, 70 (2), 448-453.
- Fageria, V. D. (2001). Nutrient interactions in crop plants. *Journal of Plant Nutrition*, 24 (8), 1269-1290.
- Ghoulam, C., Foursy, A., & Fares, K. (2002). Effects of salt stress on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars. *Environmental and experimental Botany*, 47 (1), 39-50.
- Hasegawa, P. M., Bressan, R. A., Zhu, J. K., & Bohnert, H. J. (2000). Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Biology*, 51 (1), 463-499.
- Kul, R., Arjumend, T., Ekinci, M., Yildirim, E., Turan, M., & Argin, S. (2021). Biochar as an organic soil conditioner for mitigating salinity stress in tomato. *Soil Science and Plant Nutrition*, 67 (6), 693-706.
- Lehmann, J., Cowie, A., Masiello, C. A., Kammann, C., Woolf, D., Amonette, J. E., Cayuela, L. M., Camps-Arbestain, M., & Whitman, T. (2021). Biochar in climate change mitigation. *Nature Geoscience*, 14 (12), 883-892.
- Liu, X., Zhang, A., Ji, C., Joseph, S., Bian, R., Li, L., Pan, G., & Paz-Ferreiro, J. (2013). Biochar's effect on crop productivity and the dependence on experimental conditions-a meta-analysis of literature data. *Plant and soil*, 373, 583-594.
- Major, J., Rondon, M., Molina, D., Riha, S. J., & Lehmann, J. (2010). Maize yield and nutrition during 4 years after biochar application to a Colombian savanna oxisol. *Plant and soil*, 333, 117-128.
- Mbarki, S., Cerdà, A., Zivcak, M., Brestic, M., Rabhi, M., Mezni, M., Jedidi N., Abdelly C., & Pascual, J. A. (2018). Alfalfa crops amended with MSW compost can compensate the effect of salty water irrigation depending on the soil texture. *Process Safety and Environmental Protection*, 115, 8-16.
- Nelson, D.W., & Sommers, L.E. (1982). Total Carbon, Organic Carbon, and Organic Matter. *Methods of Soil Analysis, Part 2, Physical and Mineralogical Methods*. Ed: A. Klute. Agronomy Society of America and Soil Sci. Society America, USA.
- Ors, S., & Ekinci, M. (2015). Drought stress and crop physiology. *Derim*, 32 (2), 237-250.
- Saifullah, A., Dahlawi, S., Naeem, A., Rengel, Z., & Naidu, R. (2018). Biochar application for the remediation of salt-affected soils: Challenges and opportunities. *Science of the Total Environment*, 625, 320-335.
- Santos, G. P., Cavalcante, L. F., Nascimento, J. A. M., Brito, M. E. B., Dantas, T. A. G., & Barbosa, J. A. (2012). Production of pitangueira tree using organomineralfertilization and irrigation with saline water. *Irriga*, 17 (4), 510-522.
- Shrestha, D., Srivastava, A., Shakya, S. M., Khadka, J., & Acharya, B. S. (2013). Use of compost supplemented human urine in sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) production. *Scientia Horticulturae*, 153, 8-12.
- Solmaz, I., & Sari, N. (2013). Radish and its agriculture. *Agromedya*, 6, 51- 53.
- Thomas, S. C., Frye, S., Gale, N., Garmon, M., Launchbury, R., Machado, N., Melamed S., Murray J., Petroff A., & Winsborough, C. (2013). Biochar mitigates negative effects of salt additions on two herbaceous plant species. *Journal of Environmental Management*, 129, 62-68.
- Yakit, S., Tuna, A. L. (2006). The effects of Ca, K and Mg on the stress parameters of the maize (*Zea mays* L.) plant under salinity stress. *Akdeniz University Journal of the Faculty of Agriculture*, 19 (1), 59-67.

Yao, Y., Gao, B., Zhang, M., Inyang, M., & Zimmerman, A. R. (2012). Effect of biochar amendment on sorption and leaching of nitrate, ammonium, and phosphate in a sandy soil. *Chemosphere*, 89 (11), 1467-1471.

Yerli, C., & Sahin, U. (2022). An assessment of the urban water footprint and blue water scarcity: A case study for Van (Turkey). *Brazilian Journal of Biology*, 82, e249745.

Yerli, C., Cakmakci, T., & Sahin, U. (2022). CO<sub>2</sub> emissions and their changes with H<sub>2</sub>O emissions, soil moisture, and temperature during the wetting-drying process of the soil mixed with different biochar materials. *Journal of Water and Climate Change*, 13 (12), 4273-4282.

Zheng, H., Wang, Z., Deng, X., Herbert, S., & Xing, B. (2013). Impacts of adding biochar on nitrogen retention and bioavailability in agricultural soil. *Geoderma*, 206, 32-39.



**E-TEST YÖNTEMİ İLE PROBİYOTİK BAKTERİLERİN ANTİBİYOTİKLERE KARŞI  
DUYARLILIKLARININ TESPİTİ**  
**DETECTION OF THE SUSCEPTIBILITY OF PROBIOTIC BACTERIA TO ANTIBIOTICS  
BY E-TEST METHOD**

**Emine Mine ÇOMAK GÖÇER<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Antalya, Türkiye.

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0710-2785>

**Firuze Ergin ZEREN<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>Akdeniz Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya, Türkiye.

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9751-1020>

**ÖZET**

Genellikle bakteri ve mantar gibi canlı mikroorganizmalar tarafından üreme ortamlarında sentezlenen, enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılan, birçok mikroorganizmanın üremesini durduran veya mikroorganizmalar üzerinde öldürücü etki gösteren maddelere antibiyotik denilmektedir. Salmonella ve diğer enterobakterileri inhibe etmek için belirli dozda antibiyotik kullanıldığında hasta, tifo, paratifo, salmonellosis ve dizanteri gibi enfeksiyonlardan korunmakta; ancak bağırsak florası bozularak Gram (+) bakteri sayısı büyük oranda azalmaktadır. Bunun sonucunda da hastada rahatsızlık verici semptomlar meydana gelebilmektedir. Bu tip bir problemde hem bağırsaklarda yaşayabilen hem de antibiyotiklere karşı dirençli olan probiyotik bakteriler ile hastanın tedavisi önerilmektedir. Günümüzde patojen bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç kazanması ve tüketicilerin ilaçlar yerine fonksiyonel gıdaları talep etmeleri, probiyotiklere olan ilginin artmasını sağlamıştır. Probiyotikler, yeterli miktarda alındığı zaman konakçı üzerinde sağlığa yararlı etkiler sağlayan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır. Bu çalışmada; 9 farklı probiyotik bakteri suşunun (*Bifidobacterium bifidum* BB12, *Bifidobacterium bifidum* 20456, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* HOWARU, *Lactobacillus acidophilus* La-5, *Lactobacillus acidophilus* 20079, *Lactobacillus acidophilus* 11975, *Lactobacillus bifidus*), amoksisilin-klavulanik asit, ampisilin, klindamisin, eritromisin, gentamisin ve tetrasiklin olmak üzere toplam 6 adet antibiyotiğe karşı minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değeri E-test yöntemiyle tespit edilmiştir. MİK değeri; denenen test mikroorganizma kültüründe test koşullarında üremeyi, yani mevcut canlı hücre sayısının artışıını inhibe eden (önleyen) en düşük antimikrobiyal madde konsantrasyonudur. Çalışma sonucunda; en yüksek MİK değerini bakterilerin hücre duvarı sentezini inhibe ederek etki eden gentamicin'in (256 µg/mL), en düşük MİK değerini ise bakteri hücrelerinin ribozomlarında protein sentezini inhibe ederek etki eden ampisillin'in (0.015 µg/mL) gösterdiği belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Antibiyotik, E-test yöntemi, minimum inhibisyon konsantrasyonu, probiyotik.

**ABSTRACT**

Antibiotics are substances that are synthesized by living microorganisms such as bacteria and fungi in reproductive environments, are used in the treatment of infectious diseases, stop the reproduction of many microorganisms or have lethal effects on microorganisms. When certain doses of antibiotics are used to inhibit Salmonella and other enterobacteria, patient is protected from infections such as typhoid, paratyphoid, salmonellosis and dysentery, but intestinal flora of the patient is disrupted and the number of Gram (+) bacteria decreases considerably. As a result of this, disturbing symptoms may occur in the patient. In this type of problem, treatment of patient with probiotic bacteria that are both viable in the intestine and resistant to antibiotics is recommended. Nowadays, gaining resistance of pathogenic bacteria to antibiotics and consumers' demand for functional foods instead of medicines have increased

the interest in probiotics. Probiotics are defined as live microorganisms that, when taken in adequate amounts, provide beneficial effects on the host. In this study, the minimum inhibitory concentration (MIC) values of 9 different probiotic bacteria strains (*Bifidobacterium bifidum* BB12, *Bifidobacterium bifidum* 20456, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus howaru*, *Lactobacillus acidophilus* La-5, *Lactobacillus acidophilus* 20079 *Lactobacillus acidophilus* 11975, *Lactobacillus bifidus*) against 6 antibiotics including amoxycillin-clavulanic acid, ampicillin, clindamycin, erythromycin, gentamicin and tetracycline were determined by E-test method. The MIC value is the lowest antimicrobial agent concentration that inhibits (prevents) the growth of the test microorganism culture under medium conditions, that is, the increase in the number of viable cells. As a result of the study, gentamicin (256 µg/ml) which acts by inhibiting the synthesis of cell walls of bacteria showed the highest MIC value, and ampicillin (0.015 µg/mL), which acts by inhibiting protein synthesis in the ribosomes of bacterial cells showed the lowest MIC value.

**Keywords:** Antibiotic, E-test method, minimum inhibitory concentration, probiotic

## 1. GİRİŞ

Modern tıpta antibiyotikler, bakteriyel enfeksiyonlara karşı savunmamızın temel dayanağıdır. Antibiyotikler, penisilin keşfinden beri insan ve hayvan sağlığının sürdürülmesi için yaygın olarak kullanılmaktadır (Sharma vd. 2014). Aşırı, gereksiz ve bilinçsiz antibiyotik kullanımı ile yeni antibiyotiklerin geliştirilmesindeki zorluklar bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç geliştirmesine neden olmaktadır (Kılıç ve Yenilmez, 2019). Antibiyotik direnci, bakterilerin canlılıklarını korumak için antibiyotiklerin inhibitör etkisini taklit eden direnç genlerini kodlama konusundaki genetik yeteneği olarak tanımlanmaktadır. Antibiyotik direnci olan bakteriler antibiyotik kullanımına rağmen canlılıklarını sürdürebilmektedir (Khan vd. 2019). Antibiyotiklerle enfeksiyon hastalıklarının tedavisinin zorlaşması tüketicilerin ilaçlar yerine fonksiyonel gıdaları talep etmelerini ve probiyotiklere olan ilginin artmasını sağlamıştır.

Probiyotikler, yeterli miktarlarda alındığında konakçıya sağlık açısından fayda sağlayan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır (Li vd. 2020). Probiyotik mikroorganizmalar, yoğurt, fermente peynir ve sebzeler gibi bazı gıdalarla veya besin takviyesi olarak vücuda alınabilmektedir. En yaygın kullanılan probiyotik mikroorganizmalar *Bifidobacteria* ve *Lactobacillus* suşlarıdır (Angelucci vd. 2019). Probiyotiklerin sindirim sisteminin düzenlenmesi, alerjik reaksiyonların azaltılması, kalp-damar sağlığının korunması, kolesterol seviyesinin düşürülmesi gibi birçok hastalığa karşı faydalı olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (Li vd. 2020). Sağlıkla ilgili olumlu özelliklerin sağlanması için probiyotiklerin bağırsak mikrobiyotasında yeterli sayıda bulunması gerekmektedir. Kötü beslenme alışkanlıkları, yaşam tarzı, stress ve antibiyotik tüketimi mikroorganizmaların canlılıklarını olumsuz etkilemekte ve bağırsak mikrobiyotasının dengesinin bozulması sonucu hastalık riskinin artmasına neden olmaktadır (Daliri vd. 2018).

Mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı direnci genel olarak disk difüzyon, mikro-makro dilüzyon, MALDI-TOF, PCR, DNA çipleri, Epsilometer test (E-TEST) ve bazı diğer hızlı test yöntemleriyle belirlenebilmektedir (Khan vd. 2019). Bu çalışmada, dokuz farklı probiyotik bakterinin altı farklı antibiyotiğe karşı MİK değerleri E-TEST yöntemiyle belirlenmiştir.

## 2. ARAŞTIRMA VE BULGULAR

E-TEST yöntemi için artan konsantrasyonlarda (0.015-256 µg/mL) antibiyotik içeren inert plastik şeritler (stripler) kullanılmıştır. *B. bifidum* BB12, *B. bifidum* 20456, *L. rhamnosus*, *L. casei*, *L. acidophilus* HOWARU, *L. acidophilus* La-5, *L. acidophilus* 20079, *L. acidophilus* 11975, *L. bifidus* suşlarının hücre yoğunluğu  $1 \times 10^8$  kob/mL olacak şekilde steril distile su içerisinde MacFarland cihazıyla ayarlanmıştır. Sterilize MRS Agar besin ortamından 20 mL petri kutularına dökülmüş ve katılaşması beklenmiştir. Hücre yoğunluğu ayarlanan probiyotik suşların süspansiyonları katılaştırılarak agar üzerine swap yardımıyla yayılmıştır. Probiyotik suşlarla inoküle edilmiş agar yüzeyi tamamen kuruduktan sonra MİK şeritleri petri yüzeyine yerleştirilerek 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda MİK şeritleri çevresinde oluşan zon tespit edilerek her bir probiyotik suşun gelişmesini önleyen MİK değerleri belirlenmiş ve Tablo 1'de verilmiştir.

**Tablo 1.** Probiyotik suşların çeşitli antibiyotiklere karşı MİK değerleri (µg/mL).

Probiyotik bakteriler	Amoksisili n- klavulanik asit	Tetrasikli n	Ampisili n	Gentamisi n	Klindamisi n	Eritromisi n
<i>B. bifidum</i> BB12	0.06	2	0.06	128	2	0.5
<i>B. bifidum</i> 20456	0.03	2	0.03	256	2	0.5
<i>L.rhamnosus</i>	0.25	2	0.25	128	2	0.5
<i>L. casei</i>	0.12	0.12	0.25	16	0.06	0.06
<i>L. acidophilus</i> HOWARU	0.03	4	0.015	128	2	1
<i>L. acidophilus</i> La- 5	0.12	0.5	0.06	32	1	0.12
<i>L.acidophilus</i> 20079	0.03	8	0.015	Dr*	4	1
<i>L.acidophilus</i> 11975	0.06	8	0.015	Dr	4	1
<i>L.bifidus</i>	0.06	0.5	0.015	16	Dy	0.25

\*Dr: Dirençli, Dy: Duyarlı

Tablo 1 incelendiğinde, çalışmada kullanılan probiyotik bakterilerin amoksisilin-klavulanik asit ve ampilisinin antibiyotiklerine karşı duyarlılıklarının diğer antibiyotiklere göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, gentamisinin probiyotik suşlar üzerine MİK değerlerinin diğer antibiyotiklerden yüksek olduğu saptanmıştır. *L. acidophilus* suşları arasında *L. acidophilus* LA-5'in tetrasiklin, gentamisin, klindamisin ve eritromisin antibiyotiklerine karşı daha duyarlı olduğu tespit edilmiştir.

### 3. SONUÇ

Dünya'da ve ülkemizde probiyotiklerin yıllık tüketimindeki önemli artış göz önüne alındığında, probiyotik bakterilerin bazı özelliklerinin bilinmesi önemlidir. Çalışma sonucunda farklı probiyotik bakteri türlerinin ve suşlarının farklı antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının değişebildiği ortaya konulmuştur.

### 4. KAYNAKÇA

- Angelucci, F., Cechova, K., Amlerova, J., & Hort, J. (2019). Antibiotics, gut microbiota, and Alzheimer's disease. *Journal of Neuroinflammation*, 16(1), 1-10.
- Daliri, E. B. M., Tango, C. N., Lee, B. H., & Oh, D. H. (2018). Human microbiome restoration and safety. *International Journal of Medical Microbiology*, 308(5), 487-497.
- Khan, Z. A., Siddiqui, M. F., & Park, S. (2019). Current and emerging methods of antibiotic susceptibility testing. *Diagnostics*, 9(2), 49.
- Kılıç, E., & Yenilmez, F. (2019). Türkiye ve AB Ülkelerinde antibiyotik kullanımı, antibiyotik direnci ve dış icaret dengesi üzerine bir değerlendirme. *ESTÜDAM Halk Sağlığı Dergisi*, 4(1), 45-54.
- Li, T., Teng, D., Mao, R., Hao, Y., Wang, X., & Wang, J. (2020). A critical review of antibiotic resistance in probiotic bacteria. *Food Research International*, 136, 109571.
- Sharma, P., Tomar, S. K., Goswami, P., Sangwan, V., & Singh, R. (2014). Antibiotic resistance among commercially available probiotics. *Food Research International*, 57, 176-195.

THE USE OF MELATONIN FOR BREEDING CONTROL IN QUEENS  
DIŞI KEDİLERDE ÜREMENİN DENETLENMESİNDE MELATONİN UYGULAMALARI

**Fatih BÜYÜKBUDAK<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye.

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6993-2514>

**Murat FINDIK<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye.

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1408-2548>

**ÖZET**

Kedi ve köpek popülasyonlarındaki kontrolsüz artış, üremenin denetlenmesi konusunu daha da önemli hale getirmiştir. Tüm dünyada üremenin denetlenmesi amacıyla kullanılmakta olan cerrahi ve medikal yaklaşımların birbirlerine göre avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Cerrahi yöntemler geri dönüşümsüz olup, uygun şartlar, ekipman, operasyon tecrübesi, maliyet, iş gücü gerektirmektedir. Medikal yöntemler ise operasyon tecrübesi gerektirmeyen, geri dönüşümlü ve ekonomik yöntemler olsalar da progestagenler gibi bazı hormonal uygulamaların istenmeyen (piyometra ve meme tümörü) yan etkileri bulunduğu unutulmamalıdır. Ancak kedilerde reproduktif siklusun başlangıcında kilit rol oynayan melatonin hormonunun herhangi bir yan etkisinin olmadığı gösterilmiştir. Kedilerin reproduktif olarak aktif oldukları dönem kuzey yarım küre için Ocak-Eylül ayları arasındadır. Bunun sebebi melatonin hormonunun kedilerde antigonadotropik etkili olmasıdır. Kış sonunda gün ışığı süresinin artması ile melatonin hormonunun periferik plazmadaki azalması, hipotalamus üzerindeki baskılayıcı etkinin ortadan kalkmasına, dolayısıyla hipotalamustan salgılanan gonadotropin salgılatıcı hormon düzeyinin artışıyla birlikte hipofiz bezinden gonadotropinlerin salgılanmasına ve ovaryum aktivitesinin başlamasına yol açmaktadır. Aynı şekilde yaz sonunda gün ışığı süresinin azalması sonucunda melatoninin periferik plazmadaki artışına bağlı olarak mevsimsel anöstrus şekillenmektedir. Bununla birlikte yapay ışık ile kedilerde östrusu uyarma ya da östrusu ertelemenin söz konusu olabildiği de bildirilmektedir. İnteröstrus dönemindeki 12 dişi kedide yapılan bir çalışmada günde bir kez, 4 mg oral melatonin uygulamalarının 50±6,1 gün östrus supresyonuna neden olduğu belirtilmektedir. İnteröstrus dönemindeki 19 dişi kedide, 18 mg melatonin implant kullanımının 102,4±30,7 gün östrus supresyonu sağladığı belirtilmektedir. Sunulan derleme, kedilerde üremenin denetlenmesinde melatonin uygulamalarının güvenli ve geri dönüşümlü olarak kullanımına dair güncel bilgiler vermek amacıyla hazırlanmıştır.

**Anathar Kelimeler:** Kedi, Melatonin, Üremenin Denetlenmesi.

**ABSTRACT**

The uncontrolled growth in cat and dog populations increased the importance of breeding control. Each medical or surgical breeding control method has their own advantages and disadvantages. Surgical techniques require appropriate conditions, personnel, experience, equipment, have a high cost and are irreversible. While medical procedures are reversible, relatively cheap and easy to utilize, it is important to remember that hormones like progestagens have side effects (e.g. pyometra and mammary tumours). However, melatonin, which plays a key role in the start of the reproductive cycle of cats, have been reported to have no side effects. The main reproductive activity of cats in the northern hemisphere is between January and September. This is because of the antigonadotropic effect of melatonin in cats. The increase in daylight hours at the end of winter causes a decrease in peripheral plasma concentration of

melatonin which has an inhibitory effect on hypothalamus that causes an increase in gonadotropin releasing hormone, and the increased release of gonadotropins initiate ovarian activity. The decrease of daylight hours at the end of summer causes an increase in peripheral plasma concentrations of melatonin and causes the seasonal anestrus. Artificial lighting is also reported to induce or inhibit the estrus cycle. The reports of a study that used 4 mg melatonin orally in 12 cats in interestrus show the suppression of estrus for 50±6,1 days. Another study that used an 18mg melatonin implant in 19 female cats during interestrus report the suppression of estrus for 102,4±30,7 days. The aim of this review is to provide up-to-date information about the safe and reversible use of melatonin in cats for the purpose of breeding control.

**Keywords:** Cat, Control of Breeding, Melatonin.

## 1. GİRİŞ

İlk olarak 4000 yıl önce Mısır'da evcilleştirilen kedilerin, özellikle halk sağlığı, din, sanat ve folklor başta olmak üzere tarihte önemli birçok rolü olduğu bilinmektedir. Kediler, kemirgenlere karşı mücadelede son derece etkili olmaları sebebiyle hem ana besin kaynağı olan tahılın korunmasında hem de veba ve tifüs gibi salgın hastalıkların önüne geçilmesinde doğu ve batı toplumları için büyük öneme sahip olmuşlardır. Hatta kedilerin, Mısır tanrıçası İsis ile Yunan tanrıçası Artemis için önemli bir dini sembol oldukları düşünülmektedir (Engels, 1999).

Günümüzde gerek sahipli gerekse sahipsiz kedi popülasyonu yoğunluğu, yaşam koşullarına, kültürlere ve insanların sosyal statüsüne göre farklılık göstermektedir. Ancak kedilerin artan popülasyonu, hem kedilerde görülen hastalıkların artması sebebiyle hayvan refahının olumsuz etkilenmesine hem de toksoplazmozis ve kuduz gibi zoonotik hastalıklar sebebiyle toplum sağlığı risklerine neden olabilmektedir. Bu hayvanların refah sorunlarının, sosyal açıdan ve insan sağlığı açısından olumsuz etkilerinin reproduksiyon yoğunluğu ile ilişkili olduğu hakkındaki farkındalık ise her geçen gün artmaktadır (Gunther ve ark., 2015; Özen ve ark., 2014).

Kediler, üreme özellikleri bakımından diğer evcil memelilerden farklı türlerdir. Cinsel olgunluk yaşı; doğum mevsimi, ırk, canlı ağırlık ve fotoperiyot gibi faktörlerden etkilenmektedir (Brown, 2011; Feldman ve Nelson, 2004). Mevsime bağlı poliöstrik hayvanlar olan kedilerde ovaryum aktivitesi fotoperiyoda bağlıdır (Shille ve ark., 1979). Ovulasyon için gerekli olan luteinleştirici hormon (LH) zirvesinin şekillenmesi için çiftleşme ya da vaginal stimülasyon gerekmektedir (Brown, 2006). Reprodüktif olarak aktif oldukları dönem kuzey yarı küre için Ocak-Eylül ayları arasındadır (Kutzler, 2007). Bunun sebebi melatonin hormonunun kedilerde antigonadotropik etkili olmasıdır. Kış sonunda gün ışığı süresinin artması ile melatonin hormonunun periferik plazmadaki azalışı, hipotalamus üzerindeki baskılayıcı etkinin ortadan kalkmasına, dolayısıyla hipotalamustan salgılanan gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) düzeyinin artışıyla birlikte hipofiz bezinden gonadotropinlerin salgılanmasına ve ovaryum aktivitesinin başlamasına sebep olmaktadır. Aynı şekilde yaz sonunda gün ışığı süresinin azalması sonucunda melatoninin periferik plazmadaki artışına bağlı olarak mevsimsel anöstrus şekillenmektedir (Leyva ve ark., 1984). Bununla birlikte yapay ışık ile kedilerde östrusu uyarma ya da östrusu ertelemenin söz konusu olabildiği bildirilmektedir (Shille ve Sojka, 1995).

## 2. DIŞI KEDİLERDE REPRODÜKTİF FİZYOLOJİ VE ENDOKRİNOLOJİ

Kediler, üreme fizyolojisi bakımından birçok evcilleştirilmiş türden farklıdırlar. Genellikle 4-12 aylık yaşlarda pupertaya ulaşırlar, ancak pupertanın kesin zamanı güncel fotoperiyoda, kedinin ırkına ve kilosuna göre değişiklik göstermektedir (Brown, 2011; Feldman ve Nelson, 2004). Kediler, mevsimsel poliöstrik hayvanlar olup ovulasyonları provakedir ve kedilerde ovaryum aktivitesi fotoperiyoda bağlıdır (Shille ve ark., 1979). Ovulasyon için gerekli LH dalgasının çiftleşme ile oluştuğu kabul edilmektedir (Brown, 2006).

Artan gün ışığı süresi ile kedilerde östrus indüklenirken, gün ışığı süresinin azalması ile mevsimsel anöstrus gözlenmektedir. Bununla birlikte, yaz aylarında yüksek ortam sıcaklıkları östrus görülme sıklığını azaltabilmektedir (Concannon ve Lein, 1983; Feldman ve Nelson, 2004). Mevsimsel anöstrusta ovaryum inaktivasyonu periferik plazmadaki prolaktin ve melatonin düzeyindeki yükselme ile ilişkilendirilmektedir (Leyva ve ark., 1984; Leyva ve ark., 1989). Kapalı alanlarda muhafaza edilen

kedilerde, ovaryum aktivitesi yapay ışıkla kontrol edilebilmektedir. 4x4 m'lik bir odada 100 watt'lık ampere eşdeğer minimum 10 saatlik yapay ışık ile kedilerde yıl boyunca östrus siklusu sağlanabilmektedir (Shille ve Sojka, 1995). Buna karşılık ışık süresini ayarlamak östrus siklusunun başlangıcını kontrol edebilmektedir; günlük aydınlatma süresini 8 saate düşürmek, östrus siklusunu önleyebilmektedir (Kutzler, 2007).

Genel olarak, memelilerde östrus siklusu hipotalamik-gonadal eksen tarafından kontrol edilmektedir. Ancak kedilerde hipotalamus, hipofiz ve gonadlara ek olarak epifiz bezi de bu eksene katılmaktadır. İnteröstrus ve anöstrusta daha yüksek konsantrasyonlarda bulunan epifiz bezi hormonu olan melatonin, kedilerde ovaryum aktivitesini düzenlemektedir ve kedilerde antigonadotropik etki göstermektedir (Faya ve ark., 2011). Gün ışığı süresinin artması sonucunda epifiz bezinden melatonin salınımı azalmaktadır. Bununla birlikte hipotalamusa daha az melatonin ulaşması sonucunda hipotalamusta GnRH üretimi artarak hipofiz bezinden gonadotropinlerin salınımı sağlanmaktadır (Schäfer-Somi, 2017). Gonadotropinler, ovaryum folikülogenezisi ve ovulasyon için gerekmektedir (Concannon, 1989; Feldman ve Nelson, 2004; Johnston ve ark., 2001). Kedilerde östrus siklusu 5 dönemde incelenmektedir.

Proöstrus fazı kedilerde çok kısa bir süreci ifade etmekle birlikte ortalama 1,2 gündür (0,4-2 gün). Köpeklerde gözlenen proöstrus kanaması ve vulva ödemi gibi genital değişiklikler kedilerde gözlenmemektedir. Bu durum, kedilerin vagina epitelinin, östrojen hormonuna köpeklerden daha az duyarlı olmasından kaynaklanmaktadır. Bu nedenle kedilerde proöstrus fazının fark edilmesi zor olmaktadır. Bir çalışmada (Shille ve ark., 1979), 168 kedinin sadece 27'sinde proöstrus görülebildiği ve kalan 141 kedide anöstrus ya da interöstrus döneminden doğrudan östrus dönemine geçiş olduğu bildirilmektedir. Bunun sebebi, kedilerin hızlıca foliküler faza girmeleri olarak gösterilmektedir. Hipofizden folikül uyarıcı hormon (FSH), yumurtalık folikül gelişimini desteklemektedir. Foliküller, bu dönemde 24 ila 48 saat içerisinde veziküler aşamaya kadar gelişmektedir (Wildt ve Seager, 1980; Bristol-Gould ve Woodruff, 2006). Foliküllerin büyümesiyle ovaryumdaki granüloza hücrelerinden östrojen salınımı uyarılmakta, 24 saat içinde östrojenin periferik plazma konsantrasyonu iki kat artmaktadır (Shille ve ark., 1979). Östrojen, vaginal kornifikasyonu uyarmaktadır. Bununla birlikte davranış olarak lordozis, vokalizasyon, bedenini nesnelere sürme, yerde yuvarlama gibi kızgınlık belirtilerle dişi kedi erkeği cezbetmekte, ancak çiftleşmeyi reddetmektedir. Proöstrusun sonu, erkeğin kabul edilmesiyle kendini göstermektedir (Brown, 2011).

Östrus döneminde, proöstrustaki davranışlar devam etmektedir. Östrojen plazma konsantrasyonunun en yüksek seviyeye ulaştığı dönemde folikül çapları 2,5-3,5 mm'ye ulaşmaktadır. Östrüs belirtileri şiddetlenir, sitolojik muayenede vaginal kornifikasyon gözlenmektedir. Erkeğin çiftleşme için kabul edilmesi ile başlayan östrüs ortalama 7 gün sürmektedir (Bristol-Gould ve Woodruff, 2006; Brown, 2006; Shille ve ark., 1979). Östrus davranışları, foliküler faz ile ilişkilidir ve foliküllerdeki östrojen miktarının yüksek seviyelere çıktığı ve salgıladığı süre boyunca gözlenmektedir (Shille ve Sojka, 1995). Bazı kedilerde östrus döneminde foliküler dalgalar üst üste gelmekte ve bu durum sürekli foliküler faza neden olarak uzayan östrus belirtileri ortaya çıkabilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004). Normal foliküler faz süresi 3-16 gün arasında değişmekte, çiftleşme ya da ovulasyondan etkilenmeksizin ortalama 7,4 gün olarak kabul edilmektedir (Shille ve ark., 1979). Plazma östrojen konsantrasyonu ise östrusun 3. gününde en yüksek değerlere ulaşarak davranışsal östrüs belirtilerini şiddetlendirmektedir. Gerekli foliküler olgunlaşmayı ve ovulasyonu uyarmak için LH zirvesine, dolayısıyla tekrarlayan çiftleşmelere ihtiyaç duyulmaktadır. Ovulasyon LH artışı, birkaç dakika içinde artarak zirveye ulaşarak 4-16 saat içinde yeniden bazal seviyeye düşmektedir. Ovulasyon tekrarlanan çiftleşme sayısına ve başlangıç zamanına bağlı olarak 24-48 saat içerisinde gerçekleşmektedir. Eğer çiftleşme olmazsa, çoğu durumda ovulasyon şekillenmemektedir ve preovulasyon foliküller atretik hale gelerek dejenere olmaktadır (Brown, 2006; Shille ve Sojka, 1995).

Östrus davranışlarının gözlenmediği interöstrüs dönemi 2 ila 19 gün (ortalama 10 gün) sürmekte ve kediyi diğer evcilleştirilmiş türlerden farklı kılmaktadır. Plazma östrojen ve progesteron seviyeleri, ovaryumlar hormonal olarak aktif olmadığından tüm interöstrus fazı boyunca düşük kalmaktadır (Feldman ve Nelson, 2004; Shille ve Sojka, 1995).

Ovulasyon sonrası progesteron hakimiyetindeki dönem olarak tanımlanan diöstrus dönemindeki bir kedi gebe ya da yalancı gebe olabilir. Ovulasyon sonrası 1-2 gün içerisinde gelişen korpora lutea, progesteron

sentezlenmesini ve salgılanmasını sağlayarak, hipotalamus üzerinde negatif geri bildirim neden olarak GnRH'ı baskılamaktadır. Bunun sonucunda hipofiz bezinden LH ve FSH salınımı da baskılanmaktadır. İlerleyen süreçte gerçekleşen luteolizis sonucunda diöstrus dönemi sonlanırken mevsime bağlı olarak proöstrus veya anöstrus gözlenebilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004).

Anöstrus dönemi, hormonal olarak interöstrus dönemine benzemektedir (Brown, 2011). Bu dönem, reproduktif hormonların bazal seviyelerde seyrettiği seksüel dinlenme evresi olarak tanımlanmaktadır. Dişi kedinin erkek kedi için çekici olmadığı bu dönemde herhangi bir seksüel davranış gözlenmemektedir. Bu durum, azalan gün ışığı süresine bağlı olarak artan plazma melatonin düzeyinin, hipotalamus üzerinde negatif *feedback* etkisi göstererek hipofiz bezinden gonadotropinlerin salgılanmasını baskılaması sonucunda ortaya çıkmaktadır (Leyva ve ark., 1984; Leyva ve ark., 1989; Faya ve ark., 2011).

### 3. KEDİLERDE ÜREMENİN DENETLENMESİ

Kedilerde üremenin denetlenmesinde, kalıcı ya da geri dönüşümlü olmak üzere yapılan çok sayıda girişim bulunmaktadır. Bu girişimler, sokak hayvanlarının populasyonunun ve hastalıklarının önlenmesinde, hayvan refahının korunmasında, hayvan sahiplerinin şikayet veya istekleri doğrultusunda, cerrahi ve medikal yöntemler olarak iki şekilde uygulanmaktadır (Goericke-Pesch ve ark., 2014; Munson, 2006)

#### 3.1. Cerrahi Yaklaşımlar

Cerrahi prosedürler, üreme fonksiyonunun kalıcı olarak ortadan kalkmasıyla sonuçlanmaktadır. Bu sebeple, hayvan populasyonunun dengede tutulması, hayvanlar arasındaki hastalıkların önlenmesi, zoonoz hastalıkların önlenmesi amacıyla cerrahi prosedürlere çokça başvurulmaktadır. Bu prosedürler, ovaryektomi, histerektomi, salpingektomi ve ovaryohisterektomidir (Howe, 2006; Reichler, 2009). Bu yöntemler ile sterilizasyon uygulandığında üreme fonksiyonları ortadan kalkar, ancak histerektomi ve salpingektomi sonrası seksüel davranışlar ve reproduktif hastalıkların insidansı etkilenmemektedir. Reproduktif hormonların kistik endometriyal hiperplazi-pyometra kompleks, meme tümörü, meme hiperplazisi, ovaryum kistleri gibi hastalıkların etiyopatogenezindeki rolü buna neden olmaktadır. Bu hastalıkların önlenmesi için en uygun prosedür olarak ovaryohisterektomi operasyonu öne çıkmaktadır (Reichler, 2009). Ancak ovaryohisterektomi operasyonu sırasındaki yaş faktörü de bu hastalıkların insidansı üzerinde etkilidir. Bir çalışmada (Overley ve ark., 2005), prepubertal ovaryohisterektominin meme tümörü insidansını %91 oranında azalttığı bildirilmektedir. Prepubertal ovaryohisterektomi, üriner inkontinens, obezite, buna bağlı diabetes mellitus ve hipotiroidizm, büyüme plaklarının geç kapanması nedeniyle oluşabilecek kırıkların insidansı üzerinde de etkili olmaktadır (Reichler, 2009).

#### 3.2. Medikal Yaklaşımlar

Medikal prosedürlerde hormonlar veya hormonlar gibi etki gösteren kimyasal maddeler, kedilerde geri dönüşümlü reproduktif kontrol için uygulanmaktadır. Progestagenler, androjenler, GnRH agonistleri ve melatonin bu amaçla kullanılan başlıca hormon gruplarıdır. Bu hormonlar; östrusun baskılanması, östrusun ertelenmesi şeklinde etkilere neden olmaktadır. Üremenin denetlenmesi amacıyla herhangi bir girişimde bulunulmadan önce kedinin reproduktif durumunun tam olarak belirlenmesi gerekmektedir (Goericke-Pesch, 2010; Kutzler, 2007; Wiebe ve Howard, 2009).

Megestrol asetat, melengesterol asetat, medroksiprogesteron asetat, proligeston, klormadinon asetat, delmadinon asetat ve levonorgestrol (oral olarak, implantlarda veya depo enjeksiyonları olarak) üremenin denetlenmesinde östrusu baskılayarak etki gösteren progestagenlerdir. Progestagenler, hipotalamus üzerinde negatif *feedback* etki göstererek hipofiz bezinden gonadotropinlerin salınımını önlemektedir. (Goericke-Pesch, 2010; Kutzler ve Wood, 2006; Munson, 2006). Yan etkileri bakımından değerlendirildiğinde, ağırlık artışına yol açan iştah artışına, uyuşukluk ya da huzursuzluğa, meme hiperplazisine ve/veya neoplazilerine, kistik endometriyal hiperplazi-pyometra komplekse, diyabetes mellitusun tipik klinik ve patolojik değişikliklerine yol açabildikleri bildirilmektedir. Ancak proligeston, diğer sentetik progestagenlerden daha zayıf progestatif aktiviteye sahip bir progestagen olarak değerlendirilmekte (Goericke-Pesch, 2010; Goericke-Pesch, 2014; Kutzler ve Wood, 2006; Romagnoli, 2015); kedilerde 100 mg/kedi dozunda subkutan olarak uygulandığında yaklaşık 6,5 ay boyunca östrus

supresyonuna neden olduğu bildirilmekte ve bu uygulamanın uterus veya meme patolojilerinin gelişimini desteklemediği düşünülmektedir (Romagnoli, 2015).

Androjenler, hipofiz üzerindeki negatif *feedback* etkisi ile gonadotropinlerin salınmasını engelleyerek östrusun baskılanmasına neden olmaktadır. Sentetik bir androjen türevidir olan mibrelone, kedilerde anöstrus döneminde, östrustan en az 30 gün önce, oral olarak 50 µg/gün olarak kullanılmaktadır ve uygulama süresince östrusu baskılamaktadır. Daha düşük dozlar kedilerde östrusu baskılamamaktadır. Östrusu baskılamak amacıyla kullanılan doz toksik doza yakındır; 60 mg/gün dozlarında kedilerde hepatik disfonksiyon, 120 mg/gün dozunda ise mortalite görülmektedir. Bununla birlikte mibrelone kullanımı kedilerde, klitoral hipertrofi, iştah ve kilo artışı, saldırganlık, vaginitis, kötü vücut kokusu, üriner inkontinens, epifora gibi ciddi yan etkilere sebep olması sebebiyle günümüzde tercih edilmemektedir (Kutzler ve Wood, 2006).

Gonadotropin salgılatıcı hormon agonistleri, deslorelin, löprolid, lutrelin ve nafarelin üremenin denetlenmesinde, östrusu erteleyerek etki göstermektedir (Wiebe ve Howard, 2009). Yavaş salınan GnRH-agonist implantların kullanımı üzerine yayınlanan tüm çalışmalar, implantların, puberte öncesi ve pubertal hayvanlarda üremenin denetlenmesinde kısa ve uzun süreli östrus supresyonu için uygun bir alternatif sunduğunu göstermektedir (Goericke-Pesch, 2014). Östrus döneminde uygulandığında, LH ve FSH salınımını uyararak progesteron seviyesinde artışa, yani ovulasyona neden olduğu bildirilmektedir. Anöstrus döneminde uygulandığında, *flare-up* etki göstermektedir, yani gonadotropin salınımını uyarması sebebiyle östrus indüksiyonuna sebep olmaktadır. Şekillenen östrus fertil bir östrus olması sebebiyle kedinin çiftleşmesi engellenmelidir. Çiftleşme olursa gebelik şekillenebilir ancak hipofizde *down regulasyon* oluştuğunda (yaklaşık 30 gün sonra) spontan abortus gerçekleşmektedir (Goericke-Pesch, 2010). Çiftleşme engellenirse, ilerleyen süreçte (2 ila 4 hafta) GnRH reseptör etkinliğinde *down regulasyon* şekillenerek gonadotropin salınımı baskılanmaktadır. Bu şekilde uzun süreli anöstrus dönemi başlamaktadır (Kutzler ve Wood, 2006; Toydemir ve ark., 2012; Wiebe ve Howard 2009). Uzun etkili GnRH agonistleri ile yapılan çalışmalarda deslorelin ve azagil-nafarelinin etkili sonuçlar verdiği bildirilmektedir (Kutzler ve Wood, 2006). Deslorelin implantlar (4,7 veya 6 mg), yaklaşık 11 ay östrus supresyonuna neden olmaktadır (Goericke-Pesch, 2010). Azagil-nafarelin implantlarının (20 mg) ise yaklaşık 3 yıl süreyle östrus supresyonuna neden olduğu bildirilmektedir (Rubion ve Driancourt, 2009).

### 3.2.1. Kedilerde Melatonin Uygulamaları ile Üremenin Denetlenmesi

Bir nöromodülatör madde olan melatonin hormonu, merkezi sinir sisteminde (MSS) epifiz bezinin beta adrenerjik reseptörlerinin aktivasyonu ile triptofandan sentezlenip salgılanmaktadır (Çetin, 2005; Schäfer-Somi, 2017). Melatonin biyosentezi kandan pineal beze triptofanın alınması ile başlamaktadır. Aydınlik süreçte pineal hücrelerde triptofana, triptofan-5-hidroksilaz enzimi yardımıyla -OH grubu eklenerek ve 5-OH-triptofan oluşmakta, 5-OH-triptofan, aromatik L-aminoasit dekarboksilaz enzimi aracılığıyla serotonine dönüştürülmektedir. Karanlık süreçte serotonine, norepinefrin ve N-asetil transferaz (NAT) enzimi etkisiyle asetil grubu eklenerek N-asetil serotonin oluşmaktadır. Oluşan N-asetil serotonine ise hidroksiindol-O-metiltransferaz enzimi aracılığıyla metil grubu eklenerek N-asetil-5-metoksitriptamin (melatonin) sentezlenmektedir (Çetin, 2005). Sentezden sorumlu NAT'ın aktivitesi dolayısıyla melatonin sentezi, spesifik c-AMP bağımlı transkripsiyon faktörleri ve fotoperiyodik şartlar tarafından düzenlenmektedir. Işık altında, retinadan başlayan nöronal impulslar, hipotalamusta suprakiazmatik çekirdek (SCN) ve diğer hipotalamik yapılara aktarılmaktadır. İmpulslar, SCN ve periventriküler çekirdek (PVN) aracılığı ile süperior servikal gangliyona geçmektedir. Karanlığın başlaması ile postgangliyonik sempatik liflerden salınan noradrenalin esas olarak β1 reseptörlere bağlanarak, depolardaki serotonin ve NAT enziminin intrasellüler salınımına neden olmaktadır. Nöronlarda ve pineal bezdeki biyokimyasal sinyallerin bu döngüsü, melatonin anabolizmasını hızlandırarak melatonin hormonunun gün içi ritme bağlı olarak sentez ve salınımını oluşturmaktadır (Şener, 2010; Tamura ve ark., 2014).

Melatonin hormonu, serbest radikallerin (süperoksit anyonu, hidroksil radikali, hidrojen peroksit, hipoklorik asit, nitrik oksit ve peroksinitrit anyonu) neden olduğu oksidatif stres üzerinde geniş spektrumlu bir antioksidan olarak kabul edilmektedir. Ayrıca melatonin süperoksit dizmutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSHPx), glutatyon redüktaz (GSH-Rd) ve glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PD) gibi antioksidan savunmaların aktive edilmesinde de önemli bir rol oynamaktadır.



Moleküler yapısının küçük olması ve yüksek lipofilik özellikte olması sayesinde hücre zarından kolaylıkla geçerek hücre komponentlerinde; özellikle mitokondri ve çekirdekte yüksek konsantrasyonlara erişmekte, oksidatif stresi azaltarak optimal bir mitokondriyal fonksiyon ile homeostazisin korunmasında rol oynamaktadır. Vücutta depolanmadan hızla kan dolaşımı ile safra, beyin omurilik sıvısı, tükürük, sperma, amniyotik sıvı ve ovaryum foliküler sıvısı gibi diğer vücut sıvılarına karışmaktadır (Tamura ve ark., 2014). Kanda melatoninin %70'i albümine bağlı olarak bulunmaktadır. Başlıca karaciğerde, ikinci derecede böbreklerde 6-hidroksimelatoninin sülfat ve 6-hidroksimelatoninin glukuronite metabolize olarak idrarla atılmaktadır (Çetin, 2005).

Farmakolojik olarak memelilerde hücre zarına bağlı MT1 (yüksek afiniteli) ve MT2 (düşük afiniteli) olmak üzere iki farklı melatonin reseptörü bildirilmektedir (Çetin, 2005). Hormona özgü olan bu reseptörler hücredeki etkinliğini G proteini aracılığıyla gerçekleştirmektedir. MT1 reseptörleri, başlıca hipotalamusun suprakiazmatik çekirdeğinde tespit edilirken, MT2 reseptörlerinin retina, hipokampus ve diğer beyin bölgelerinde tespit edildiği bildirilmektedir. Melatonin reseptörleri, hipofiz gonadotropinlerin salınımını düzenleyen hipotalamik nöronlarda ve anterior hipofiz bezinin gonadotropinlerinde, meme epitelinde, myometriyumda, ovaryumdaki granuloza hücreleri ve luteal hücrelerde tanımlanmıştır (Kutzler, 2015; Şener, 2010; Tamura ve ark., 2014).

Melatonin sekresyonunun süresi, karanlık periyot ile doğru orantılı olmaktadır. Kedilerde melatonin hormon konsantrasyonları; karanlık fazda, ışık fazından 15 kat daha fazla bulunmuştur. Kedilerde ovaryum aktivitesi artan gün ışığı süresi ile başlamaktadır. Serebral korteks üzerindeki artan ışığın doğrudan bir etkisi olarak, epifiz bezinden melatonin sekresyonu baskılanır ve bu da GnRH'nın hipotalamik sekresyonunda artışa neden olmaktadır. Sonuç olarak, anterior hipofizden gonadotropinlerin sekresyonu artar ve bu da kedide östrus siklusunu başlatmaktadır (Schäfer-Somi, 2017). Bu bilgiler ışığında, melatonin hormonunun ekzojen kullanımı, kedilerde östrusun ertelenmesinde geri dönüşümlü olması ve yan etkileri olmaması sebebiyle ilgi çekici bir konu olarak değerlendirilmektedir. Ekzojen melatonin hormonu oral, subkutan enjeksiyon ve subkutan implant olarak farklı şekillerde uygulanabilmektedir.

Oral melatonin uygulamasının ovaryum fonksiyonları üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada (Graham ve ark., 2004), 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık periyotta, 1 m x 1,5 m x 1,5 m boyutlarında paslanmaz çelik kafeslerde tutulan, ticari hazır mama ile beslenen, östrus siklusuna bakılmaksızın seçilen, yaşları 8-18 ay arasında değişen 6 adet pubertal dişi kedi çalışmanın materyalini oluşturmuştur. Kedilere karanlık periyottan 3 saat önce 30 mg/kedi (24 saatte 1 tablet, oral) dozunda 35 gün süreyle melatonin uygulanmıştır. Kedilerden, *vena jugularis*'e kateterizasyon uygulaması yapılarak melatonin uygulaması sırasında, 0,5, 1, 2, 3, 4, 6 ve 8. saatlerde kan örnekleri toplanmıştır. Bu çalışmada serum melatonin konsantrasyonlarının, tek bir oral 30 mg melatonin dozundan 1 saat sonra doruğa ulaştığı ve 8 saatten fazla bir süreçte endojen günlük konsantrasyonlarının üzerinde kaldığı görülmüş, melatonin yarılanma ömrünün  $45,4 \pm 3,5$  dk olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada, günlük 30 mg oral melatonin uygulaması süresince östrojenin bazal seviyelerde seyrettiği ve kedilerde östrusu baskıladığı sonucuna varılmıştır (Graham ve ark., 2004). Ancak oral uygulamaların güç olması ve günlük kullanımın pratik olmaması sebebiyle kedilerde oral melatonin uygulamaları tavsiye edilmemektedir (Kutzler, 2015).

Faya ve ark. (2011) tarafından yapılan, uzun süreli melatonin kullanımının interöstrus aralığı ve pubertasa etkisinin araştırıldığı bir çalışmada 41 pubertal, 32 prepubertal kedinin farklı guruplar halinde, 14 saat aydınlık, 10 saat karanlık periyotta çalışmaya alındığı bildirilmektedir. Çalışmada pubertal kediler 18 mg melatonin implant (17 kedi), 4 mg oral tablet (12 kedi) ve kontrol grubu (12 kedi) olmak üzere 3 grupta incelenmiştir. Prepubertal kediler de aynı sıra ile  $1,9 \pm 0,3$  kg vücut ağırlığına sahip 12 kedi,  $1,5 \pm 0,3$  kg vücut ağırlığına sahip 10 kedi ve kontrol grubu olan 10 kedi olmak üzere 3 gruba ayrılmışlardır. Günlük 4 mg oral tablet kullanılan pubertal kedilerde, tedavi başlangıcı ile ilk östrus siklusu arasındaki süre  $50 \pm 6,1$  gün, 18 mg implant kullanılan pubertal kedilerde  $51 \pm 4,7$  gün, kontrol grubunda ise  $12,6 \pm 1,1$  olarak bulunmuştur. Günlük 4 mg oral tablet kullanılan prepubertal kedilerde pubertasa erişme süresi  $208,6 \pm 13,0$  gün, 18 mg implant kullanılan prepubertal kedilerde  $232,4 \pm 10,5$  gün, kontrol grubunda ise  $192,4 \pm 20,1$  gün olarak bulunmuştur. Prepubertal kedilerde yapılan uygulamaların pubertas yaşını etkilemediği sonucuna varılmıştır. Çalışma sırasında ve sonrasında kedilerde herhangi bir yan etkinin gözlemlenmemesi sebebiyle melatonin kullanımının güvenli olduğu

ancak daha yüksek melatonin dozları, daha uzun salınım formülasyonuna sahip implantlar veya tekrarlanan uygulamalara ihtiyaç olduğu bildirilmiştir (Faya ve ark., 2011).

Rastgele seçilmiş, yaşları 12 ila 14 ay arasında değişen, 14 yetişkin melez kedinin kullanıldığı bir çalışmada (Gimenez ve ark., 2009), kedilere interöstrus döneminde 18 mg melatonin implant (9 kedi) ve plasebo implant (5 kedi) uygulaması yapılmıştır. Kediler implant uygulamasından 45 gün öncesinde 14 saat aydınlık, 10 saat karanlık periyoda tabi tutulmuştur. İmplant uygulamasından sonra kediler bir sonraki östrus siklusuna kadar gözlemlenmiştir. Plasebo implant uygulanan kedilerde, implantasyon sonrası  $6,0 \pm 9,7$  gün içerisinde östrus davranışları gözlenmiştir. Melatonin implant uygulamasından sonraki 3-9 gün içinde, kedilerin %33'ünde vajinal sitoloji bulguları ile örtüşen ve 2 gün süren östrus davranışları gözlemlenmiştir. Takip eden süreçte  $113,3 \pm 6,2$  gün süreyle östrus supresyonu gözlemlenmiştir. Aynı uygulama östrus döneminde tekrar uygulandığında, implant yerleştirilmesini takip eden 9-11 gün içinde, kedilerin %78'inde vajinal sitoloji bulguları ile örtüşen ve 2-3 gün süren östrus davranışları gözlemlenmiştir. Takip eden süreçte  $61,1 \pm 6,9$  gün süreyle östrus supresyonu gözlemlenmiştir. Çalışmaya alınan kediler tedavi sonrası östrus dönemlerinde sağlıklı 1 erkek kedi ile çiftleştirilerek %100 oranında gebelik elde edilmiştir. Sonuç olarak, subkutan bir melatonin implantının 2 ila 4 ay boyunca kedilerde etkili, geri dönüşümlü ve güvenli bir şekilde östrus supresyonuna neden olduğu bildirilmektedir (Gimenez ve ark., 2009).

Kedilerde melatonin implant uygulamasının güvenilir bir uygulama olduğu düşünülmektedir. Ancak bu tedavi pubertal kedilerde sadece kısa süreli östrus baskılama ile sonuçlanmaktadır ve prepubertal kedilerde etkili olmamaktadır. Bazı araştırmacılar (Faya ve ark., 2011; Kutzler, 2015; Schäfer-Somi, 2017) melatonin uygulaması yapılan kedilerde kısa süreli östrus baskılanmasını yetersiz olarak görmektedir. Bu sebeple daha yüksek melatonin dozlarının, daha uzun salınımlı bir formülasyonun veya tekrarlanan dozların ovaryum üzerine etkilerini araştırmak gerekmektedir (Kutzler, 2015).

Prolaktin salınımı dişi kedilerde karanlık periyotta, aydınlık periyottan daha yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Hem melatonin hem de prolaktin sekresyonu, fotoperiyottaki değişikliklere karşı oldukça duyarlılık göstermektedir. Bu iki hormonun kombinasyonun, hipotalamusun negatif *feedback* tepkisini modüle etmede daha etkili rol oynamasının muhtemel olduğu düşünülmektedir. Bunun sonucunda melatonin ve prolaktin kombinasyonunu içeren implantların, tek başına melatonin ile kıyaslandığında daha etkili sonuçlar verebileceği düşünülmektedir (Kutzler, 2015). Melatonin implantların (18 mg), kedilerde östrusun kısa süreli baskılanması amacıyla kullanımı mümkün olmaktadır. Ancak, bireysel farklılıklar, gecikmiş etkinlik ve başarısızlık olasılığı hakkında uygulama öncesi kedi sahiplerinin bilgilendirilmesi gerekmektedir (Schäfer-Somi, 2017).

## KAYNAKLAR

- Bristol-Gould S, Woodruff TK. Folliculogenesis in the domestic cat (*Felis catus*) *Theriogenology* 2006;66:5-13
- Brown JL. Comparative endocrinology of domestic and nondomestic felids. *Theriogenology* 2006;66:25-36
- Brown JL. Female reproductive cycles of wild female felids. *Anim Reprod Sci* 2011;124:155-162.
- Concannon PW. Induction of fertile oestrus in anoestrus dogs by constant infusion of GnRH agonist. *J Reprod Fert Suppl* 1989;39:149-60.
- Concannon P, Hodgson B, Lein D. Reflex LH release in estrous cats following single and multiple copulations. *Biol Reprod* 1980;23:111-117.
- Concannon PW, Lein DH. *Feline Reproduction*, Kirk RW ed. *Current Veterinary Therapy*, 8th Ed, W.B. Saunders, Philadelphia 1983: 932-936.
- Çetin E, Melatonin ve bağışıklık sistemi. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg* 2005;2(2):119-123.
- Engels DW. *The Cat in History*, Engels DW ed. *Classical Cats: The Rise and Fall of the Sacred Cat*, 1st Ed, Routledge 1999.

- Faya M, Carranza A, Priotto M, Graiff D, Zurbriggen G, Diaz JD, Gobello C. Long-term melatonin treatment prolongs interestrus, but does not delay puberty, in domestic cats. *Theriogenology* 2011;75:1750–1754.
- Feldman EC, Nelson RW. Feline reproduction, Kersey R, LeMelledo D eds. *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction*, 3rd Ed, Missouri, Saunders 2004; 1016-1043.
- Jimenez F, Stornelli MC, Tittarelli CM, Savignone CA, Dorna IV, Sota RL, Stornelli MA. Suppression of estrus in cats with melatonin implants. *Theriogenology* 2009;72:493–499.
- Goericke-Pesch S. Reproduction control in cats: new development in non-surgical methods. *J Feline Med Surg* 2010;12:539-546
- Goericke-Pesch S, Wehrend A, Georgiev P. Suppression of fertility in adult cats. *Reprod Dom Anim* 2014; 49:33-40.
- Graham LH, Swanson WF, Wildt DE, Brown JL. Influence of oral melatonin on natural and gonadotropin-induced ovarian function in the domestic cat. *Theriogenology* 2004;61:1061–1076
- Gunther I, Raza T, Berke O, Klement E. Nuisances and welfare of free-roaming cats in urban settings and their association with cat reproduction. *Prev Vet Med* 2015;119:203–210.
- Howe LM. Surgical methods of contraception and sterilization. *Theriogenology* 2006;66:500–509
- Johnston SD, Kustritz MVR, Olson PNS. Sexual differentiation and normal anatomy of the queen, Johnston SD, Kustritz MVR, Olson PNS eds. *Canine and feline theriogenology*, W.B. Saunders, Philadelphia 2001: 389-395.
- Kutzler MA. Estrus induction and synchronization in canids and felids. *Theriogenology* 2007;68:354–374.
- Kutzler MA. Alternative methods for feline fertility control: use of melatonin to suppress reproduction. *J Feline Med Surg* 2015;17:753–757.
- Kutzler MA, Wood A. Non-surgical methods of contraception and sterilization. *Theriogenology* 2006; 66: 514–525.
- Leyva H, Addiego L, Stabenfeldt G. The effect of different photoperiods on plasma concentrations of melatonin, prolactin, and cortisol in the domestic cat. *Endocrinology* 1984;115:1729-1736.
- Leyva, H, Madley T, Stabenfeldt G. Effect of melatonin on photoperiod responses, ovarian secretion of oestrogen, and coital responses in the domestic cat. *J Reprod Fertil Suppl* 1989;39:135–142.
- Munson L. Contraception in felids. *Theriogenology* 2006;66:126–134.
- Overley B, Shofer FS, Goldschmidt MH, Sherer D, Sorenmo KU. Association between ovariectomy and feline mammary carcinoma. *J Vet Intern Med* 2005;19:560-563
- Özen D, Gürçan S, Kaya U. Ankara ilinde yer alan sahipli kedi ve köpek popülasyonunun belirlenmesi. *Vet Hek Der Derg* 2014;85(1):9-16.
- Reichler IM. Gonadectomy in cats and dogs: a review of risks and benefits. *Reprod Dom Anim* 2009;44:29-35.
- Romagnoli S. Progestins to control feline reproduction: historical abuse of high doses and potentially safe use of low doses. *J Feline Med Surg* 2015;17:743–752
- Rubion S, Driancourt MA. Controlled delivery of a GnRH agonist by a silastic implant (gonazon) results in long-term contraception in queens. *Reprod Dom Anim* 2009;44:79-82.
- Schäfer-Somi S. Effect of melatonin on the reproductive cycle in female cats: a review of clinical experiences and previous studies. *J Feline Med Surg* 2017;19(1):5-12.

Shille VM, Lundström KE, Stabenfeldt GH. Follicular function in the domestic cat as determined by estradiol-17 $\beta$  concentrations in plasma: relation to estrous behavior and cornification of exfoliated vaginal epithelium. *Biol Reprod* 1979;21:953-963.

Shille VM, Sojka NJ. Feline reproduction, Ettinger SJ, Feldman EC eds. *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, W.B. Saunders, Philadelphia 1995: 1690-1698.

Şener G. Karanlığın hormonu: melatonin. *Marmara Eczacılık Dergisi* 2010;14:112-120.

Tamura H, Takasaki A, Taketani T, Manabu Tanabe M, Lee L, Tamura I, Maekawa R, Aasada H, Yamagata Y, Sugino N. Melatonin and female reproduction. *J Obstet Gynaecol Res* 2014;40,1-11.

Toydemir TSF, Kılıçarslan MR, Olgaç V. Effects of the GnRH analogue deslorelin implants on reproduction in female domestic cats. *Theriogenology* 2012;77:662-674.

Wiebe VJ, Howard JP. Pharmacologic advances in canine and feline reproduction. *Top Companion Anim Med* 2009; 24(2):71-99.

Wildt DE, Seager SWJ. Laparoscopic determination of ovarian and uterine morphology during the reproductive cycle. Morrow DA ed. *Current therapy in theriogenology*, W. B. Saunders, Philadelphia 1980: 828-832.

**OESTRUS MANAGEMENT IN BUFFALOES  
MANDALARDA ÖSTRUS YÖNETİMİ**

**Fatih BÜYÜKBUDAK<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye.*

<sup>1</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6993-2514>*

**Murat FINDIK<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>*Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye.*

<sup>2</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1408-2548>*

**ÖZET**

Mandalar, özgün nitelikli süt ve et verimi özellikleri sebebiyle tercih edilen çiftlik hayvanlarıdır. Mandaların beslenme konusunda inekler kadar özen istememeleri, olumsuz mevsim koşullarına adapte olabilmeleri, kalitesiz kaba yemleri değerlendirebilmeleri, bakım ve idari giderlerinin minimum düzeylerde olması avantaj gibi görünebilir. Ancak bu koşullar altında reproduktif performans önemli ölçüde azalmaktadır. Bunun sonucunda geç yaşlarda pubertasa ulaşmaları, suböstrus, düşük gebelik oranları, doğum sonrası anöstrus sorunu yaşamaları söz konusu olmaktadır. Reproduktif performansı arttırmak amacıyla mandalarda östrus yönetimi çalışmaları yapılmaktadır. Türkiye’de sığırlara göre davranış bakımından yabancı olarak değerlendirilen mandalar, yetiştiricisi dışında uygulama ve manipülasyonlara karşı oldukça elverişsiz gözükmemektedir. Ancak, İtalya, Hindistan, Pakistan gibi ülkelerde yetiştiriciliği yapılan manda ırklarında, verim özelliklerinin sığırlar ile kıyaslanabilecek kadar yüksek olduğu hatta hekim tarafından yapılacak uygulamalara karşı oldukça ılımlı davranışlar sergiledikleri görülmektedir. Bunun, söz konusu ülkelerde manda yetiştiriciliğine verilen önemin, uzun yıllardır yapılan seleksiyon uygulamaları ve araştırmaların bir sonucu olduğu düşünülmektedir. Ülkemizde daha çok ekstansif yetiştiriciliği yapılan Anadolu mandalarında, sürü takibi kayıt sistemleri, beslenme, östrus yönetimi uygulamalarının yetersiz kalması sebebiyle reproduktif verim düşük kalmaktadır. Anadolu mandalarında reproduktif verimin artırılması amacıyla entansif ya da yarı entansif yetiştiriciliğe geçiş yapılması gerekmektedir. Bu şekilde yıl boyunca beslenme profili, kuraklık, don gibi olumsuz iklim koşullarından etkilenmeyecek, reproduktif performansın azalmasında etkili önemli bir faktörün önüne geçilmiş olacaktır. Bununla birlikte sürü yönetimi kontrol programlarının çiftliklerde kullanımının önü açılarak östrus yönetiminin etkin şekilde yapılması ile senkronizasyon prosedürlerinin uygulanması, malaklama ve süt veriminin belirli mevsimlerle sınırlı kalmayıp, yıl boyunca sürdürülebilir olmasına imkan sağlayacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Manda, Reproduktif fizyoloji, Östrus senkronizasyonu.

**ABSTRACT**

Buffaloes are farm animals preferred by breeders due to their unique milk and meat yield characteristics. It may seem like an advantage that buffaloes do not require as much care as cows in feeding, they can adapt to adverse seasonal conditions, they can evaluate poor quality roughage, and their maintenance and administrative expenses are at minimum levels. However, under these conditions, reproductive performance is significantly reduced. As a result, they reach puberty at late ages, subestrus, low pregnancy rates, and postpartum anoestrus problems. Oestrus management studies are carried out in buffaloes to increase reproductive performance. Buffaloes, which are considered as wild in terms of behavior compared to cattle in Turkey, seem to be quite unsuitable for practices and manipulations other than their breeders. However, it is seen that the yield characteristics of buffalo breeds bred in countries

such as Italy, India and Pakistan are high enough to be compared with cattle, and they even show very moderate behavior against the applications to be made by the physician. The reason for this is the importance given to buffalo breeding in these countries, selection practices and researches that have been done for a long time. In Anatolian buffaloes, which are mostly grown extensively in our country, reproductive efficiency remains low due to insufficient herd monitoring, recording systems, feeding, and estrus management practices. Intensive or semi-intensive breeding should be done in order to increase reproductive efficiency in Anatolian buffaloes. In this way, the nutritional profile throughout the year; it will not be affected by adverse climatic conditions such as drought and frost, and an important factor affecting the reduction of reproductive performance will be prevented. However, by paving the way for the use of herd management control programs in farms, the effective implementation of estrus management and the implementation of synchronization procedures will allow plowing and milk yield to be sustainable throughout the year, not limited to certain seasons.

**Keywords:** Buffalo, Oestrus Synchronization, Reproductive Physiology.

## 1. GİRİŞ

Beş bin yıl önce Asya kıtasında evcilleştirilen, Bovidae ailesinden olan mandanın, Bubalus cinsi altında iki farklı türü bulunmaktadır. Asya mandaları (Bubalus bubalina) ve Afrika mandaları (Bubalus synserina) olarak sınıflandırılan mandanın, evcil ve yabani formlardan köken alan 74 ayrı ırkı bulunmakta olup, bu ırklar; beden yapısı, verim özellikleri, kromozom sayısı ve yetiştiricilikteki önemi yönüyle bataklık (Swamp Buffalo) ve nehir (Water Buffalo) mandaları olarak ikiye ayrılmaktadır. Bataklık mandalarının süt verimi bulunmaması sebebiyle tarımda yük/çeki hayvanları olarak kullanılırken, nehir mandalarının et ve süt verim özellikleri ön plandadır ve bugün dünya üzerinde 45 ülkede yaygın şekilde yetiştiriciliği yapılmaktadır (Küçükkebabçı ve Aslan, 2002; Sarıözkan, 2011).

Manda, bulaşıcı birçok hastalığa dayanıklı olması, bakım ve besleme konusunda inekler kadar özen istememesi, kalitesiz kaba yemleri değerlendirebilmesi, bakım ve idari giderlerinin minimum düzeylerde olması gibi sebeplerle yetiştiriciler tarafından tercih edilen çiftlik hayvanlarıdır. Ayrıca özgün ve nitelikli süt (lüle kaymağı, yoğurt, peynir ve dondurma) ve et (sucuk, salam ve pastırma) verimi özellikleri ile de dünyada pek çok ülkede manda ürünlerine olan talep artış göstermektedir. Özellikle dünyaca ünlü Mozzarella peyniri, manda sütünden üretilmektedir (Küçükkebabçı ve Aslan, 2002; Sarıözkan, 2011).

Türkiye’de yayılım gösteren Anadolu manda ırkının, yaşam biçimi, vücut yapısı, fizyolojik ve verim özellikleri bakımından Nehir mandasının (Bubalus bubalis fluvatilis) alt grubunda yer alan, yerli, tek manda ırkı olduğu bildirilmektedir. Irmak, dere, bataklık ve sazlık gibi su kaynaklarının bulunduğu Orta Karadeniz ve Marmara bölgelerinde yoğun olarak yaşayan Anadolu mandaları, etinden ve sütünden yararlanmak amacıyla yetiştirilmekte olup yılda ortalama 1500 lt/laktasyon süt verim özelliğine sahiptir (Akyüz ve ark., 2017; Özdemir ve Özdemir, 2018)

Dünya manda popülasyonu 1982 yılında 128 milyon; 1992 yılında 148 milyon; 2005 yılında 173 milyon; 2012 yılı itibarıyla 199 milyon olarak bildirilmektedir (Aköz ve ark., 2017). Buna karşın Türkiye’de 1982 yılında yaklaşık 1 milyon Anadolu mandası olduğu, 1990’larda bu sayının 370.000 dolaylarına gerilediği ve 2007 yılında 85.000’lere kadar düştüğü tahmin edilmektedir (Çenesiz ve ark., 2011; Aköz ve ark., 2017). Dünyadaki artış karşısında Türkiye’de yıllar içinde manda sayısında görülen azalmanın sebebi, tarımdaki modernleşmeye bağlı olarak ülkemizde manda yetiştiriciliği için uygun arazilerin azalması, manda yetiştiricilerinin entansif yetiştiriciliğe ayak uyduramaması, manda ürünlerine olan talep azlığı, sığırlara oranla daha geç yaşlarda ve düşük verimli olmaları, manda yetiştiriciliğine devlet tarafından verilen teşviklerin yetersizliği ve halkın sosyo-ekonomik durumu gibi etkenlerin rol oynadığı düşünülmektedir (Şahin ve ark., 2013). Manda popülasyonundaki bu kritik azalış fark edilerek, 2008 yılında yetiştiricilere anaç manda teşvikleri ödenmeye başlanmış, 2011 yılında Anadolu mandası Türkiye’de biyolojik varlıklara ait gen kaynaklarının korunmasına yönelik proje (Türkhaygen-I) kapsamına alınmıştır. Bakanlık ve çeşitli illerde kurulan damızlık manda yetiştiricileri birliklerinin çalışmalarıyla üreticilere verilen destekler ile birlikte manda sayısı 2016 yılında 142.073 başa ulaşmıştır (Aköz ve ark., 2017; Özdemir ve Özdemir, 2018).

Mandaların olumsuz mevsim koşullarına adapte olarak kalitesiz kaba yemleri değerlendirebilmeleri, bakım ve idari giderlerinin minimum düzeylerde olması bir avantaj gibi görülse de bu koşullar altında reproduktif performansın önemli ölçüde azaldığı da bilinmektedir. Daha geç yaşlarda pubertasa ulaşma, düşük gebelik oranları, uzun malaklama aralıkları, doğum sonrası anöstrus sorunu gibi birçok problem bu yetersiz beslenme durumuyla yakından ilgilidir. Zayıf östrus davranışları ve düzensiz östrus siklusları nedeniyle ovulasyon zamanının tespit edilememesi suni tohumlama uygulamasını güçleştirmekte, reproduktif verimi düşürmekte ve ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Bunun önüne geçmek ve dölvürümünü arttırmak amacıyla mandalarda östrus yönetimi çalışmaları yapılmaktadır (Şekerden ve ark., 2005; Uçar ve ark., 2005; Perera, 2011; Verma ve ark., 2019).

## 2. MANDALARDA REPRODÜKTİF FİZYOLOJİ VE ENDOKRİNOLOJİ

### 2.1. Pubertas

Mandalar genellikle yetişkin vücut ağırlığının yaklaşık %55-60'na ulaştığında pubertasa ulaşır, ancak genotip, beslenme, yönetim, sosyal çevre, iklim, doğum mevsimi ve hastalıklardan etkilenmesi sebebiyle pubertasa erişme yaşı 18 ila 46 ay arasında değişiklik göstermektedir. Elverişli koşullar altında nehir ve bataklık mandalarının sırasıyla 15-18 aylık ve 21-24 aylık yaşlarda ilk östrus davranışlarını sergiledikleri belirtilmektedir. Pubertasa erişimde vücut ağırlığı önemli bir faktör olup, bataklık tipi için 200-300 kg, nehir tipi için 250-400 kg olarak gözlenmektedir. Manda, sığırdan daha geç pubertasa erişmesine rağmen, sığıra göre daha uzun bir üreme hayatına sahip olmakta ve bu ekonomik dezavantajı uzun vadede telafi etmektedir (Perera, 2011).

Sığırlarla karşılaştırıldığında mandalarda pubertas ve tohumlama yaşı oldukça gecikmektedir. Nehir mandalarında 15-18 aylık yaşta östrus davranışları gözlenirken, ilk gebelik 24-36 aylar arasında şekillenmektedir. Bu durumu direkt ya da dolaylı olarak birçok faktör etkileyebilmektedir. Örneğin reproduktif verimliliği direkt olarak mevsim koşulları etkilemektedir. Bunun yanı sıra bakım ve besleme koşulları, iklimsel etkenler (nem, gün ışığı süresi, çevresel ısı) önemli yer tutmaktadır. Anadolu mandalarında Akdeniz ırklarından farklı olarak daha geç şekillenen pubertasa erişme yaşı, 30-36 aylık yaşlarda gözlenmektedir ve manda düvelerinin genellikle Haziran ve Ağustos aylarında ilk östrus davranışlarını gösterdikleri belirtilmektedir (Uçar ve ark., 2005).

### 2.2. Ovaryum ve Hormonal Konsantrasyon

Pubertas sonrasında manda düvelerinin ovaryumlarında bulunan primordiyal folikül sayısı 10.000 ila 20.000 kadardır. Ovaryumlar, sığırlara oranla daha küçüktür ve inaktifken yaklaşık 2,5 gram (g), aktif dönemde 4 g olup, az sayıda tersiyer folikül içermektedir. Dominant foliküllerin (DF) çapı 15 mm boyutlarında olup ovaryum yüzeyinde hafif çıkıntı yapmaktadır ve erken gelişim safhasındaki korpus luteum (CL) ile benzerlik göstermektedir. Korpus luteum küçüktür ve genellikle ovaryum yüzeyinde belirgin bir çıkıntı yapmamakta ve tipik taç yapısı göstermemektedir. Bu özellikler, ovaryum yapılarının rektal palpasyonla doğru şekilde tanımlanmasını güçleştirmektedir. Trans-rektal ultrasonografik (USG) muayenede, dominant foliküllerin çapı 1,3 ila 1,6 cm, olgun CL çapının 1,2 ila 1,7 cm arasında olduğu belirtilmektedir (Perera, 2011).

Östrus siklusu sürecinde, kandaki ve süttteki progesteron (P4) konsantrasyonlarındaki değişiklikler, sığırlar ile benzerlik göstermektedir. Süttteki P4 konsantrasyonu, östrus siklusunun foliküler fazı sırasında genellikle 0,3 ng/ml altındadır ve luteal faz sırasında 1-4 ng/ml arasındadır. Ovaryum aktivitesini değerlendirmek ve gebeliğin erken teşhisi için, 1 ng/ml'nin üzerindeki P4 konsantrasyonları luteal fonksiyonun varlığının bir göstergesi olarak değerlendirilirken, 0,3 ng/ml'nin altında luteal fonksiyon olmadığı kabul edilmektedir (Uçar ve ark., 2005; Perera, 2011). Östrojen (E2) konsantrasyonları ise luteal faz süresince düşük dalgalanmalar halinde 10-20 pg/ml aralığında belirlenirken, östrus anında veya bir gün öncesinde preovulatör folikül sayesinde 30-35 pg/ml seviyelerine ulaşmaktadır. Östrusu takip eden iki gün içerisinde de 5-10 pg/ml seviyeleri arasına düşmektedir. Luteleştirici hormon (LH) östrus anında 20-35 ng/ml değeriyle en yüksek seviyelere ulaşmakta, östrus sonrası bir gün içerisinde konsantrasyonunda keskin bir düşüş gözlenmekte ve luteal faz süresinde 1-3 ng/ml seviyelerinde bulunmaktadır. Folikül stimüle edici hormon (FSH) seviyeleri östrus öncesinde 57-65 ng/ml değeriyle yüksek seviyelerde seyrederken, luteal faz süresince 10-17 ng/ml civarında seyretmektedir (Uçar ve ark., 2005).

### 2.3. Foliküler Dinamik

Foliküler dalga, hipofiz gonodotropinlerinin, ovaryum steroidlerinin ve nonstroidal faktörlerin etkisi ile ovaryumdaki bir grup folikülün, aynı anda gelişmeye başlaması ve bu gruptan bir tanesinin gelişimini hızlandırarak dominant hale geçerken diğer folliküllerin gelişmesini durdurması anlamına gelmektedir. Ovaryumda luteal bir yapının varlığında söz konusu folikül atrezi olurken, yeni bir foliküler gelişim meydana gelmektedir. Bu süreç içerisinde dominant folikül her zaman olduğu gibi diğer folikülleri kontrolü altında tutmaktadır (Uçar ve ark., 2005). Mandalardaki foliküler dinamik genel itibariyle sığırlar ile bezerlik göstermektedir. Ancak, farklı ırklar arasında ve hatta aynı ırkın farklı bireyleri arasında bile foliküler dalgaların sayısı, foliküler gelişim ve gerileme özellikleri hakkında belirgin farklılıklar olduğu belirtilmektedir (Perera, 2011). Mısır mandaları üzerine yapılan bir çalışmada, 56 mandadan 26'sında iki dalgalı (%46,4) ve 30'unda üç dalgalı (%53,6) foliküler gelişim dalgası olduğu belirtilmektedir (Barkawi ve ark., 2009). Murrah ırkı mandalarda bir östrus siklusu sırasında, foliküler dalga sayısının, hayvanların %3'ünde 1, %63'ünde 2 ve %33'ünde 3 olduğu belirtilmektedir. Aynı zamanda ilk foliküler dalga başlangıcının ovulasyon sonrası birinci, ikinci ve üçüncü dalga şekillenen siklusa göre sırasıyla ortalama 1,00,  $1,16 \pm 0,50$  ve  $1,10 \pm 0,32$  günlerde başladığı; siklusun ikinci folliküler dalgasının 2 ve 3 dalga oluşan hayvanlarda  $10,83 \pm 1,09$  ve  $9,30 \pm 1,25$  günlerde şekillendiği; üçüncü dalga seyrinin de  $16,80 \pm 1,22$  günde başladığı belirtilmektedir. Bir dalgalı olan sikluslarda ovulasyon aralığının 21 gün, iki dalgalı olanlarda ise 22,7 gün civarında olduğu belirtilmektedir. İki ovulasyon arası sürenin 2 dalgalı fazda  $22,27 \pm 0,89$ , üç dalgalı da ise  $24,50 \pm 1,88$  gün olduğu, ayrıca luteal faz uzunluğunun da 2 dalgalı sikluslarda  $10,40 \pm 2,1$ , üç dalgalı da  $12,66 \pm 2,91$  gün civarında sürdüğü bildirilmektedir. İlk dominant foliküllerin maksimum çaplarının iki dalgalı fazda 1,51 cm, üç dalgalı fazda da 1,33 cm olduğu aktarılmaktadır. Bunun yanı sıra ovulatör folikül çapının iki dalgalı sikluslarda 1,55 cm, üç dalgalı sikluslarda 1,34 cm olarak bildirilmektedir. İki foliküler dalga içeren sikluslarda, mandalarda ineklerdekine benzer bir şekilde anovülator ilk dominant folikül seksüel siklusun ikinci yarısında regrese olurken, ikinci dominant ve ovulatör olan folikül gelişmekte; üç dalgalı sikluslarda ise 2. dominant folikül regrese olurken, ovulatör 3. dominant folikülün geliştiği bildirilmektedir (Baruselli ve ark., 1997).

### 2.4. Östrus Siklusu

Mandalarda östrüs siklusu süresi, mevsim, beslenme, gün ışığı süresi, sevk ve idare gibi faktörlerden etkilenmekle birlikte ortalama 21 (11-30 gün) gün sürdüğü belirtilmektedir (Uçar ve ark., 2005). Anadolu mandalarında seksüel siklus sürelerinin yoğun olarak 17-23 günler arasında değiştiği, ortalama olarak da  $21,2 \pm 1,1$  gün sürdüğü belirtilmektedir. Östrus süresi, nehir ve bataklık mandalarında, 5 ila 27 saat arasında değişmekte olup, ovulasyon, östrusun başlangıcından sonra yaklaşık 24 ila 48 saat (ortalama 34 saat) sonra meydana gelmektedir. Sıcak iklimlerde, östrus süresi daha kısa olmakla birlikte ve östrus belirtileri sadece gece veya sabah erken saatlerde gözlemlenmektedir (Perera, 2011). Anadolu mandalarında ise östrus süresinin 10-36 saatler arasında değiştiği, ortalama olarak da  $19,7 \pm 2,2$  saat sürdüğü belirtilmektedir (Uçar ve ark., 2005).

Mandalarda östrus davranışları sığırlara göre sakin olup, östrus belirtileri ise her zaman net olmamaktadır. Ancak sürü içerisinde boğa bulunması durumunda, proöstrusta olan hayvanın tespiti, boğanın o hayvana ilgi göstermesi ve aşım davranışları göstermesi ile tespit edilmektedir (Perera, 2011). Anadolu mandalarında çara akıntısının hemen hemen hayvanların hepsinde gözlenebileceği, vulva mukozasında %50 oranında hiperemi, %45,83 ödem, diğerlerine atlama eğiliminin %16,66, atlamaya izin verme ve diğer dişilerce vulvanın koklanması davranışlarının ise %4,17 civarında gözlemlendiği belirtilmektedir (Uçar ve ark., 2005).

## 3. MANDALARDA DÖLVERİMİNE ETKİ EDEN FAKTÖRLER

Mandalarda, poliöstrik hayvanlar olup seksüel aktivitelerinin yıl boyu sürmesi beklenmektedir, ancak üreme faaliyetleri bazı mevsimlerde yoğunlaşmaktadır. İklim, mevsim, sürü yönetimi, besleme, genotip gibi pek çok çevresel ve bireysel faktörler, mandalarda reproduktif performansı önemli ölçüde etkilemektedir. Özellikle sıcak iklim koşullarının meydana getirdiği sıcak stresi, gün ışığı süresi, emzirme süreci, zayıf östrus semptomları gibi faktörlerin anöstrus sorununun şekillenmesine neden olarak reproduktif verimliliği olumsuz etkilediği belirtilmektedir (Uçar ve ark., 2002; Terzano ve ark., 2012). Mandalarda doğum sonrası ilk ovaryum aktivitesinin 30-60. günler arasında başladığı,



postpartum ilk östrus ve ovulasyonun 60-90. günler arasında görüldüğü ve bu sınırların üstündeki verilerin anöstrus sorunu olarak değerlendirildiği ve malaklama aralığını uzatan en önemli infertilite sebeplerinden biri olduğu belirtilmektedir. Ovaryum aktivitesini değerlendirebilmek için rektal muayene bulgularının yanı sıra, süt/plazma progesteron değerlerinden de yararlanılabilmektedir. Süt progesteron değerleriyle postpartum ilk ovulasyon ve östrus gibi parametreler belirlenebilir, reproduktif fonksiyonel bozukluklar, özellikle anöstrus sorunu teşhis edilebilmektedir (Uçar ve ark., 2002).

Uçar ve ark. (2002)'in postpartum anöstrus sorununun rektal muayene ve süt progesteron testi ile belirlenerek, sorunlu hayvanlarda progesteron salıcı intravajinal aygıt (progesterone releasing intravaginal devices, PRID) ve gebe kısırak serum gonadotropini (PMSG) hormon uygulamasının fertiliteye etkisini araştırdığı bir çalışmada, postpartum  $193 \pm 22$  günde olan 8 adet Murrah ırkı manda kullanıldığı belirtilmektedir. Postpartum süreçte hayvanlarla birlikte manda boğası bulunduğu halde hiçbir hayvanda östrus belirtileri gözlenmediği belirtilmektedir. Mandalara 1 ay süreyle, haftada bir kez yapılan rektal muayenelerde 7 mandada ovaryumların küçük, sert ve inaktif oldukları (CL-), uteruslarının ise normal olduğu belirtilmektedir. Bir mandanın ovaryumlarında ise birer hafta ara ile yapılan muayenelerde CL ile Graaf folikülü ve izleyen haftada ise yine CL bulunduğu, ancak bu hayvanda östrus belirtileri gözlenmediği belirtilmektedir. Ayrıca süt progesteron düzeylerinin belirlenmesi amacıyla haftada iki kez potasyum dikromatlı tüplere sabah sağımindan 5 ml süt örneği alınarak analiz için  $+5^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edildiği belirtilmektedir. Anöstrus sorunlu mandalara 1,55 g progesteron + 10 mg östradiol benzoat içeren PRID spirallerinin intravajinal uygulandığı (n=8) ve 12 gün beklenildiği belirtilmektedir. PRID'lerin uzaklaştırılacağı gün 750 internasyonal ünite (İÜ) PMSG'nin intramuskuler (i.m.) (n=7) olarak enjekte edildiği belirtilmektedir. PRID'ler hayvanlardan uzaklaştırıldıktan 24 saat sonra, günde 3 kez 30 dakika süreyle ve 4 gün süresince, manda boğası kullanılarak östrus takibi yapıldığı belirtilmektedir. Doğal aşımardan sonra izleyen olası östrus tarihlerinde tekrar gözlemler yapıldığı ve gerçekleşen aşımaların kaydedildiği, hayvanların gebeliklerinin doğal aşımaları izleyen 60-75. günlerde rektal muayene ile belirlendiği belirtilmektedir. Senkronizasyon sonrası mandalarda (n=7) östrus gözlenirken, yedinci günde PRID'i düşüren bir mandanın da östrus gösterdiği, östrus bulgularının tedavi bitiminden ortalama 60 saat sonra şekillendiği ve her bir gebelik için aşım sayısının 2,13 olarak tespit edildiği belirtilmektedir. Mandaların %87,5'inin ikinci aşımında, %12,5'inin ise üçüncü aşımında gebe kaldığı belirlenirken, ilk aşımalar sonrasında ise gebelik şekillenmediği belirtilmektedir. Ayrıca senkronizasyon sonrası şekillenen iki östrus arasındaki sürenin 22-27 gün olduğu aktarılmakta, elde edilen gebelik oranının %100 olduğu bildirilerek bunun sürü içerisinde sürekli boğanın bulunmasından ileri gelebileceği belirtilmektedir. Bunun yanı sıra mandaların gözlenen ilk östruslarda gebe kalmamasının, hayvanlarda PRID uygulaması sonrasında oluşan aseptik vajinitisten kaynaklanabileceği, daha sonraki fertil östruslarda bu olgunun ortadan kalkması ile doğal aşımaların daha olumlu sonuçlar verebileceği belirtilmektedir. Süt progesteron değerleriyle reproduktif faaliyetlerin takip edilebileceği, anöstrus sorunlu mandalarda bu değerlerin  $0,1 \pm 0,02$  ng/ml civarında olduğu belirtilmekte, süt progesteron analizleriyle sakin kızgınlık ve klinik bozuklukların da belirlenebileceği vurgulanmaktadır (Uçar ve ark., 2002).

Türkiye'de Anadolu mandalarında yapılan, ilk fertil östrus yaşı üzerine doğum ağırlığı ve iklim etkisinin araştırıldığı bir çalışmada (Gündoğan ve ark., 2003), ilk östrus yaşının hayvanların doğumu sonrası ortalama  $917,7 \pm 103,3$  gün (33 ay) sonra şekillendiği ve Haziran ile Ağustos ayları arasında sıklaştığı, dolayısıyla ilk doğum kayıtlarının da Mayıs ile Temmuz ayları arasında yoğunlaştığı aktarılmaktadır. Anadolu mandalarında postpartum dönemde yapılan incelemelerde ise östrusların Nisan, Mayıs ve Ağustos ayları arasında yoğunlaştığı aktarılmaktadır (Uçar ve ark., 2004).

Klinik muayeneler sonucunda, herhangi bir patoloji gözlenmeyen ve gebe olmadığı belirlenen, nonsiklik 141 adet mandada, farklı mevsimlerde PRID, prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  (PGF<sub>2</sub> $\alpha$ ) ve PMSG kullanılarak östrus senkronizasyonu ve sabit zamanlı suni tohumlama (ST) uygulamalarının, döl tutma üzerine etkisinin araştırıldığı başka bir çalışmada Nisan 2002'de 44 (1. grup), Kasım 2002'de 29 (2. grup), Nisan 2003'te 29 (3. grup), Kasım 2003'te 24 (4. grup) ve Mayıs 2004'te 15 (5. grup) hayvana PRID uygulamasını izleyen 7. günde PGF<sub>2</sub> $\alpha$  enjeksiyonu ve aynı gün mandaların nonsiklik olmaları sebebiyle 1.000 İÜ PMSG enjeksiyonu yapılmıştır (Şekerden ve ark., 2005). 10. günde PRID'in çıkarılmasının ardından tüm mandaların, östrus takibi yapılmaksızın Anadolu manda boğası semeniyle 48, 72 ve 96. saatlerde suni tohumlamaya tabi tutulduğu çalışmada tohumlama sonrası 30 gün boyunca mandalar, boğalardan

ayrı tutulmuş ve iki gruba ayrılarak 30 günün sonunda her iki grup içerisine birer boğa konulmuştur. Bütün gruplarda ST sonrası 90. günde rektal palpasyon ile gebelik kontrolü yapılmış, beş ayrı grupta tohumlanan 141 mandanın %36,9'unun gebe olduğu görülmüştür. Nisan 2002 ve 2003 yıllarında sırasıyla %45,5-%58,6 gebelik oranı, Mayıs 2004'te %46,7 oranı ile Nisan ayı benzer bulunmuş, Kasım 2002 ve 2003 yıllarında sırasıyla %17,2-%12,5 gebelik oranları Nisan ve Mayıs ayına göre oldukça düşük kalmıştır. Mandaların sadece köy merasında dayalı olarak beslendikleri, meranın ilkbaharda iyi olmasına rağmen yazın kuruma derecesinde kötü olduğu ve yetiştiricinin de ek yemleme yapmaması nedeniyle Kasım ayında mandaların vücut kondisyon skorlarının düşük olmasına bağlı olarak reproduktif performanslarının olumsuz etkilendiği gösterilmiştir.

Mandalar her ne kadar sıcak ve nemli iklime iyi adapte olsalarda, üreme performansları sıcaklık stresinden önemli ölçüde etkilenmektedir. Zayıf ve dengesiz beslenmenin GnRH salınımını olumsuz yönde etkilediği, dolayısıyla yetersiz FSH ve LH salınımının ovaryumlarda yeterli folikül gelişimini destekleyememesine bağlı olarak infertilite sorunlarına yol açabileceği bildirilmektedir (Verma ve ark., 2019). Doğrudan güneş ışınlarına maruz kaldıklarında, ter bezlerinin sığırlara oranla az olması sebebiyle kutanöz evaporatif soğutma mekanizmaları yetersiz kalmakta ve sıcak stresine karşı oldukça duyarlı hale gelmektedirler. Sıcak stresine maruz kalan mandalarda plazma kortizol ve prolaktin (PRL) seviyelerinin yüksek düzeyde olduğu ve bunun sonucunda gonadotropin salınımının olumsuz etkilendiği belirtilmektedir. Bununla birlikte PRL seviyesinin yükselmesi ovaryum üzerinde LH reseptörlerinin azalmasına, ovaryumun FSH ve LH'ye dirençli hale gelmesine; yetersiz ve eksik FSH ve LH salınımı sebebiyle plazma E2 seviyesinin düşük kalmasına, dolayısıyla östrus davranışlarının belirsiz olmasına ya da anöstrus sorunlarına yol açabileceği belirtilmektedir (Das ve Khan, 2010; Verma ve ark., 2019).

Mandaların dölverimini etkileyen ve mevsimsel üreme özellikleri göstermelerine etki eden bir diğer önemli faktörün fotoperiyot olduğu düşünülmektedir (Parmeggiani ve ark., 1993; Barile, 2005; Terzano ve ark., 2012; Wankhade ve ark., 2019). Fotoperiyot ile ilgili bilgiler, retina tarafından algılanan ışığın, bir dizi nörolojik yol izleyerek epifiz bezine aktarılması ile belirlenmektedir. Işık-karanlık süresindeki değişikliğe yanıt olarak epifiz bezinden melatonin hormonu sirkadiyen salgılanmaktadır (Das ve Khan, 2010; Terzano ve ark., 2012; Wankhade ve ark., 2019).

Mandaların poliöstrik hayvanlar olmalarına rağmen, reproduktif performanslarının yıl boyunca çeşitlilik gösterdiği ve bu çeşitliliğin özellikle fotoperiyota bağlı olduğunu savunan çalışmalar bulunmaktadır (Parmeggiani ve ark., 1993; Ramadan ve ark., 2014). Anadolu mandalarında, sonbahar ve yaz aylarında doğum yapanlarda servis periyodunun, ilkbahar ve kış aylarında doğuranlara göre önemli ölçüde kısa olduğu aktarılmaktadır (Uçar ve ark., 2005). Parmeggiani ve ark. (1993)'ın İtalyan mandalarında plazma melatonin seviyelerini araştırdığı bir çalışmada, 12 adet mandadan yılda 3 ayrı mevsimde (kış, bahar ve yaz), kan örnekleri 24 saat boyunca her 2 saatte bir toplanmıştır. Plazma melatonin konsantrasyonlarının karanlık süreçte 50-300 pg/ml'ye kadar arttığı, gün ışığındaki plazma melatonin seviyelerinin 20-40 pg/ml bazal değerleri arasında gözlendiği belirtilmektedir. Mevsimlere göre yapılan değerlendirmede Aralık ayı verilerinin  $35,22 \pm 2,07$ , Mart ve Nisan verilerinin  $35,0 \pm 2,07$ , Haziran ayı verilerinin  $23,13 \pm 2,07$  olduğu ve İtalyan mandalarında gebelik olgularının Mart ve Ağustos ayları arasında şekillendiği aktarılmaktadır. Bu çalışmada, gebelik durumunun melatonin salgılanması üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığı ifade edilmektedir. Bu çalışmada İtalyan mandalarında melatonin hormonunun reproduktif verimi etkilediği ve mevsimle ilişkili olduğu aktarılmaktadır. Ancak melatonin hormonunun, mandalarda foliküler gelişimi ve ovulasyonu kontrol eden endokrin mekanizma üzerinde nasıl bir etkisi olduğunun araştırılması gerektiği belirtilmektedir (Parmeggiani ve ark., 1993).

Ramadan ve ark. (2014)'ın Murrah ırkı mandalarda, melatonin ve CIDR uygulamalarının, ovaryum aktivitesi üzerindeki etkisini incelemek amacıyla yaptıkları çalışmada, ovaryum aktivitesi, hormonal seviye ve antioksidan enzim aktivitelerinin, melatonin uygulamasından etkilendiği belirtilmektedir. Melatonin uygulamasının, dominant foliküllerin çapını artırırken, plazma progesteron ve LH konsantrasyonlarını azalttığı, bununla birlikte, diğer ovaryum parametreleri ve antioksidan enzim aktiviteleri üzerine anlamlı bir etki göstermediği, melatonin ve CIDR uygulaması yapılan grupta, sadece CIDR uygulaması yapılan gruba kıyasla, üreme sezonu dışında düvelerin üreme performansının arttığı belirtilmektedir. Östrus oluşum yüzdesinin her iki grupta %100 olarak gözlendiği, melatonin ve CIDR uygulanan grupta suni tohumlamadan 21 gün sonra, korpus luteumun devamlılığı %88 iken, sadece CIDR uygulanan grupta %37,5 olarak gözlendiği belirtilmektedir. Ayrıca, melatonin ve CIDR

uygulanması yapılan grupta gebe kalma oranının, sadece CIDR uygulanan gruba kıyasla sırasıyla %37,5 ve %12,5 oranlarıyla üç kat daha yüksek bulunduğu aktarılmaktadır (Ramadan ve ark., 2014).

#### 4. MANDALARDA ÖSTRUS YÖNETİMİ PROSEDÜRLERİ

Mandalarda reproduktif performans, östrus belirtilerinin zayıf olması, servis periyodunun sıcak mevsimlerde uzaması ve düşük gebelik oranları gibi sebeplerle oldukça olumsuz etkilenmektedir. Dölverimini artırmak için çeşitli östrus ve ovulasyon senkronizasyonu protokolleri geliştirilmiştir. Bu prosedürler, prostaglandinler ile luteal evrenin kısaltılması, progesteron ile luteal evrenin uzatılması, gonadotropinler ile foliküler dalganın manüplasyonu ve bunların kombinasyonu şeklinde uygulanmaktadır (Rensis ve Lopez-Gatius, 2007).

##### 4.1. Luteal Evrenin Kısaltılması Amacıyla Uygulanan Prosedürler

Mandalarda, PGF2 $\alpha$  uygulamasının etkisinin, sığırlar ile oldukça benzerlik gösterdiği ve östrus siklusunun 5. gününden itibaren PGF2 $\alpha$  uygulanmasının, CL regresyonuna neden olduğu belirtilmektedir. Daha sonra plazma progesteron konsantrasyonunun 24 saat içerisinde bazal konsantrasyonlara düştüğü belirtilmektedir. Mandalarda PGF2 $\alpha$ 'nın tek veya çift doz uygulamalarının, üreme mevsimi boyunca hayvanların yaklaşık %60-80'inde östrus ve ovulasyonu uyurabileceği belirtilmektedir (Rensis ve Lopez-Gatius, 2007).

Düşük doz kloprostenolün luteolitik etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan bir çalışmanın ilk etabında, on adet siklik mandaya, üreme mevsiminde (Şubat ayı) 500  $\mu$ g i.m. kloprostenol uygulaması yapılarak östrus senkronizasyonu protokolü uygulandığı belirtilmektedir. Bu mandalar daha sonra rastgele 2 gruba ayrılarak, ilk uygulamadan 11 gün sonra, A grubu 500  $\mu$ g i.m. kloprostenol, B grubu intravulvosubmukozal (i.v.s.m.) 125  $\mu$ g kloprostenol uygulamalarına tabi tutularak, PGF2 $\alpha$  enjeksiyonundan hemen önce, 24, 48, 72, 96 ve 120. saatlerde kan örneklerinin toplandığı belirtilmektedir (Chohan, 1998). Çalışmanın 2. etabında, üreme faaliyetlerinin yüksek (Eylül-Şubat) ve düşük (Mart-Ağustos) olduğu mevsimlerde, suböstrus gözlenen 137 Nili-Ravi ırkı manda kullanıldığı aktarılmaktadır. Üreme mevsiminde ortalama maksimum ve minimum ortam sıcaklıkları sırasıyla 29,35  $\pm$  5,66 ve 10,90  $\pm$  6,44  $^{\circ}$ C, üreme faaliyetlerinin düşük mevsimde maksimum ve minimum ortalama sıcaklıkları sırasıyla 37,41  $\pm$  4,64 ve 21,15  $\pm$  5,99  $^{\circ}$ C olarak belirtilmiştir. Üreme mevsiminde olan mandalar, rastgele 2 gruba ayrılarak 125  $\mu$ g i.v.s.m. (n=28) ve 500  $\mu$ g i.m. (n=33) kloprostenol, üreme mevsimi dışındaki mandalar da aynı prosedürle ve sırasıyla 37 ve 39 mandadan oluşan gruplara ayrılarak kloprostenol uygulamalarına tabi tutuldukları belirtilmektedir. Çene topu (chin ball) takılan penis muhafazalı boğa yardımı ile mandalarda, 06:00, 12:00, 18:00 ve 22:00 saatlerinde östrus takibi yapıldığı belirtilmektedir. Östrus davranışları gözlenen mandalar, östrus başlangıcından 12 ve 22 saat sonra iki kez ST uygulandığı aktarılmaktadır. İlk kloprostenol enjeksiyonundan sonra östrus göstermeyen mandalara, ilk enjeksiyondan 11 gün sonra aynı prosedürle ikinci kloprostenol uygulamasını takip eden 72. ve 96. saatlerde ST uygulaması yapıldığı, bütün hayvanların benzer ve rutin çiftlik yönetimi altında tutulduğu belirtilmektedir. Çalışmanın ilk etabında, A ve B gruplarındaki bütün mandalarda senkronizasyonun ardından östrus gözlemlendiği belirtilmektedir. Grup A ve B arasında, kloprostenol uygulamasından östrus başlangıcına kadar geçen süre sırasıyla, 94,9  $\pm$  10,7 ve 96,0  $\pm$  15,9 saat olarak gözlemlendiği belirtilmektedir. Bununla birlikte, grup A'da uygulamadan sonraki 24 saat içinde serum P4 seviyelerinde 4,06  $\pm$  1,38'den 0,55  $\pm$  0,17 ng/ml'ye ani bir düşüş gözlemlendiği, bu seviyelerin 96 saatte 0,14  $\pm$  0,04 ng/ml'ye düştüğü belirtilmektedir. B grubunda serum P4 seviyelerinin yavaş yavaş azaldığı, 24 saat içerisinde 4,28  $\pm$  1,22 ng/ml'den 2,02  $\pm$  0,44 ng/ml'ye düştüğü ve 96 saatte 0,16  $\pm$  0,06 ng/ml değerleriyle bazal seviyeye gerileği belirtilmektedir. Serum P4 değerlerinde 24 ve 48. saatlerde grup A ve B arasında farklılık gözlenirken, sonraki süreçte farklılık gözlenmediği belirtilmektedir. Çalışmanın 2. etabında, üreme mevsiminde senkronizasyon protokolü uygulanan, 125  $\mu$ g/kg i.v.s.m. ve 500  $\mu$ g/kg i.m. kloprostenol gruplarında gebelik oranları sırasıyla %47,8 ve %53,1 olarak bulunurken, üreme mevsimi dışında sırasıyla %23,5 ve %25,6 değerleri bildirilmektedir. Sonuç olarak, östrus senkronizasyonunda düşük doz kloprostenol uygulamalarının normal doz kadar etkin olduğu, ancak mandalarda reproduktif verimin mevsimlerden önemli ölçüde etkilendiği sonucuna varıldığı bildirilmektedir (Chohan, 1998).

#### 4.2. Foliküler Dalganın Manipasyonu ve Ovulasyonun Uyarılması Amacıyla Uygulanan Prosedürler

Sığırlarda GnRH uygulamalarının, foliküler gelişimin ve ovulasyonun indüklenmesi amacıyla yaygın olarak kullanıldığı belirtilmektedir (Berber ve ark., 2002). Östrus siklusunun herhangi bir aşaması sırasında GnRH uygulanması, bir LH dalgalanmasına neden olup, bu LH dalgalanmasının; pre-dominant foliküllerin atrezisi, dominant folikülün ovulasyonu ya da dominant folikülün luteinizasyonu şeklinde sonuçlanabileceği belirtilmektedir. Trans-rektal ultrasonografik muayene sonucunda, ovaryumlarda bir dominant folikül belirlenen mandalarda, GnRH uygulamasının, senkronizasyon uygulanan hayvanların %60-86'sında ovulasyona neden olduğu, uygulama ve ovulasyon arasındaki sürenin de  $33 \pm 8,3$  saat olduğu bildirilmektedir (Rensis ve Lopez-Gatius, 2007).

Sığır ve mandalarda östrus tespiti olmadan zamanlanmış bir suni tohumlama programının kullanılmasına izin veren östrus senkronizasyonu protokolleri bulunmaktadır. Bunlardan biri olan ovsynch protokolünün, dominant folikülün GnRH uygulaması tarafından ovulasyonunu, yedi gün sonra prostaglandin uygulaması tarafından CL regresyonunu ve ardından yeni gelişen dominant folikülün ikinci bir GnRH enjeksiyonu ile ovulasyonunun kontrolünü sağladığı belirtilmektedir (Rensis ve Lopez-Gatius, 2007; Karuppanasamy ve ark., 2017; Purohit ve ark., 2019). Ovsynch protokolünün başarılı olabilmesi için, ilk GnRH uygulaması sırasında bir dominant folikülün varlığının gerektiği ve dominant folikül varlığının, ovaryumun ultrasonografik muayenesi ile belirlenebileceği belirtilmektedir. Ayrıca uygulama öncesi 11 gün ara ile çift prostaglandin (Co-synch programı) uygulaması yapılarak senkronizasyon uygulaması yapılabileceği belirtilmektedir (Rensis ve Lopez-Gatius, 2007).

Mandalarda, ovsynch protokolünün hayvanların %78-90'ında ovulasyonu senkronize ettiği, üreme mevsiminde gebe kalma oranlarının ortalama %33-60 arasında olduğu ve gebelik sağlanması için, son GnRH uygulaması ile ST arasındaki sürenin 12-24 saat olması gerektiğini belirtilmektedir (Rensis ve Lopez-Gatius, 2007).

Berber ve ark. (2002)'in 2 farklı ovsynch protokolünü karşılaştırdıkları bir çalışmanın ilk etabında, Murrah melezi otuz adet manda eşit 2 gruba (A ve B) ayrılarak, A (n=15) grubuna 0. gün GnRH (buserelin asetat, 20 µg), yedinci gün PGF2α (luprostiol, 15 mg), dokuzuncu gün GnRH ve 16 saat sonra ST; B (n=15) grubuna 0. gün GnRH, 7. gün PGF2α, 9. gün LH (domuz LH'si, 12,5 mg) ve 16 saat sonra ST uygulamaları yapıldığı aktarılmaktadır. İlk 2 gün 12 saatte bir, yedinci gün 1 kez ve 9. günden ovulasyona kadar olan süreçte 6 saatte bir USG muayenesi yapıldığı belirtilmektedir (Berber ve ark., 2002). İlk GnRH enjeksiyonundan sonra yapılan ultrasonografik muayenede, her iki grupta ovulasyon oranlarının %86,6 (26/30) olduğu, A grubundaki 1 mandada 7 ve 9. günler arasında ovulasyon gözlemlendiği belirtilmektedir. Her iki grupta (A ve B) ikinci GnRH/LH enjeksiyonundan sonra ovulasyon oranlarının sırasıyla %93,3 (14/15), %93,3 (14/15) değerleriyle istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğu belirtilmektedir. Çalışmanın 2. etabında 305 mandanın, A grubu (n=154) ve B grubu (n=151) olmak üzere iki gruba ayrılarak, birinci etapla aynı prosedüre tabi tutuldukları belirtilmektedir. Mandalarda gebelik oranlarının A ve B gruplarında sırasıyla %56,5 (87/154), %64,2 (97/151) değerlerinde olduğu belirtilmektedir. Aradaki farklılığın uygulanan senkronizasyon protokollerinden kaynaklanmadığı; tek doğum yapan mandaların, birden fazla doğum yapan mandalara göre daha düşük gebelik oranlarına sahip olduğu ve A grubunda tek doğum yapan mandaların yoğunlukta olduğu belirtilmektedir (Berber ve ark., 2002).

Waqas ve ark. (2016)'nın ovsynch ve G6G senkronizasyon protokollerini karşılaştırdığı bir çalışmada, Nili-Ravi ırkı, postpartum  $120 \pm 20$  günlerde olan, ultrasonografik muayenede ovaryum ve uterusu herhangi bir patoloji gözlenmeyen, üreme mevsimindeki 50 mandanın çalışmanın materyalini oluşturduğu belirtilmektedir. Mandaların, Ovsynch ve G6G grubu olmak üzere eşit iki gruba ayrılarak senkronizasyon protokollerine tabi tutuldukları aktarılmaktadır. Senkronizasyon oranlarına bakıldığında, G6G protokolünde %92, ovsynch protokolünde %64 oranında senkronizasyon sağlandığı, benzer şekilde son PGF2α uygulamasına cevap olarak, G6G prosedüründe %92, ovsynch prosedüründe %68 oranlarında yanıt alındığı ve G6G prosedürünün önemli ölçüde yüksek oranlar sağladığı belirtilmektedir. Gebelik oranlarına bakıldığında, G6G ve ovsynch protokollerinde sırasıyla %56 ve %32 değerleriyle anlamlı bir fark ortaya çıktığı belirtilmektedir (Waqas ve ark., 2016).

#### 4.3. Luteal Evrenin Uzatılması ve Hormon Kombinasyonu Uygulamaları

Mandalarda östrus senkronizasyonunda progestagenler, luteal evrenin uzatılmasını sağlamak amacıyla kullanılmaktadır. Progestagen bazlı senkronizasyon protokollerinde, östradiol benzoat (EB), PGF2 $\alpha$ , hCG ve PMSG uygulamalarının, östrus ve gebe kalma oranlarını geliştirdiği bildirilmektedir (Barile ve ark., 2005; Rensis ve Lopez-Gatius, 2007; Purohit ve ark., 2019). Bu protokoller, P4 içeren aygıt uygulaması sırasında östrojen ya da GnRH uygulaması ve 10 gün sonra aygıtın çıkarılmasından önceki gün PGF2 $\alpha$  uygulanmasını içermektedir. Progesteron uygulaması ile aynı gün yapılan östrajen veya GnRH, dominant folikül büyümesini baskılamak ve yeni bir foliküler dalga oluşumunu desteklemek amacıyla yapılmaktadır (Purohit ve ark., 2019). Ovulasyonun, aygıtın çıkarılmasının ardından 40-96 saatte olduğu, senkronizasyona tabi tutulan hayvanların %80-93'ünde östrus gözleendiği ve hayvanların %20-50'sinde gebelik elde edilebileceği belirtilmektedir (Rensis ve Lopez-Gatius, 2007).

İtalyan mandalarında, farklı mevsimlerde, progesteron bazlı senkronizasyon protokolünün gebelik oranına etkisinin araştırıldığı bir çalışmada gebelik oranlarının sonbahar ve ilkbaharda sırasıyla %46,2-44,3 olarak bulunduğu belirtilmektedir (Barile, 2005).

Khan ve ark. (2018)'in, progesteron temelli senkronizasyon prosedüründe, PMSG'nin reproduktif parametreler üzerine etkisini araştırdığı bir çalışmada, postpartum 60-200 günler arasında, vücut kondisyon skoru 5 üzerinden  $3,0 \pm 0,3$  olan, postpartum süreçte herhangi bir östrus belirtisi göstermeyen ve USG muayenelerinde herhangi bir patoloji gözlenmeyen mandaları iki gruba ayırmış, 0. günde CIDR (1,38 g progesteron), sıfıncı ve 8. günlerde sırasıyla 2 mg ve 1 mg EB, altıncı günde PGF2 $\alpha$  (0,15 mg kloprostenol) ve sadece ilk gruba PMSG (500 IU PMSG), yedinci günde CIDR çıkarıldıktan sonraki 48. ve 60. saatlerde sabit zamalı ST uygulamaları yapılmıştır. CIDR çıkarıldıktan sonra, yedi, sekiz ve 9. günlerde USG muayenesi ile dominat folikülün gelişimi değerlendirilmiş; ilk grupta günlük çap artışı  $1,62 \pm 0,09$  mm olurken diğer grupta bu  $1,30 \pm 0,05$  mm olarak gözlenmiş, ovulasyon öncesi Graff folikül çapları da sırasıyla  $14,08 \pm 0,19$  mm ve  $12,5 \pm 0,27$  mm olarak ölçülmüştür. Gebelik oranları da sırasıyla %56 ve %31 olarak bulunmuş ve PMSG'nin progesteron tabanlı östrus senkronizasyonda oldukça başarılı olduğu sonucuna varılmıştır.

#### 5. SONUÇ

Mandalar, kendilerine has yaşam ortamları, verim yönleri, yemden yararlanma ve hastalıklara olan dirençleri göz önünde bulundurulduğunda, yetiştiriciler tarafından tercih edilen bir çiftlik hayvanı olmaktadır. Türkiye'de sığırlara göre davranış bakımından yabancı olarak değerlendirilen mandalar, yetiştiricisi dışında uygulama ve manipülasyonlara karşı oldukça elverişsiz gözükmektedir. Ancak, İtalya, Hindistan, Pakistan, Brezilya gibi ülkelerde yetiştiriciliği yapılan manda ırklarına bakacak olursak, verim özelliklerinin sığırlar ile kıyaslanabilecek kadar yüksek olduğu hatta hekim tarafından yapılacak uygulamalara karşı oldukça ılımlı davranışlar sergiledikleri görülmektedir. Bunun sebebi, bu ülkelerde manda yetiştiriciliğine verilen önemin, uzun zamandır yapılan seleksiyon uygulamaları ve araştırmaların geçmişe dayanmasından kaynaklanmaktadır.

Ülkemizde daha çok ekstansif yetiştiriciliği yapılan Anadolu mandalarında, sürü takibi kayıt sistemleri, beslenme, östrus yönetimi uygulamalarının yetersiz kalması sebebiyle reproduktif verimleri düşük kalmaktadır. Günde ortalama 5-6 litre süt verimi, yılda ortalama 280 gün laktasyon süresi olan Anadolu mandaları verim yönünden diğer ırklara kıyasla oldukça düşük kalmaktadır.

Anadolu Mandalarında reproduktif verimin artırılması amacıyla entansif ya da yarı entansif yetiştiriciliğe geçiş yapılması gerekmektedir. Bu şekilde yıl boyunca beslenme profili; kuraklık, don gibi olumsuz iklim koşullarından etkilenmeyecek, reproduktif performansın azalmasında etkili önemli bir faktörün önüne geçilmiş olacaktır. Bununla birlikte sürü yönetimi kontrol programlarının çiftliklerde kullanımının önü açılarak östrus yönetiminin etkin şekilde yapılması sağlanacaktır. Senkronizasyon prosedürlerinin uygulanması, malaklama ve süt veriminin belirli mevsimlerle sınırlı kalmayıp, yıl boyunca sürdürülebilir olmasına imkan sağlayacaktır. Bununla birlikte uygulanacak senkronizasyon prosedürleri östrus davranışlarının belirsizliği sebebiyle kaybedilen zamanın önüne geçilmesine ve gebelik oranlarının yükselmesine önemli ölçüde katkı sağlayacaktır.

## KAYNAKLAR

- Aköz M, Arık D, Kul M, Çelik B. Buffalo breeding: buffalo breeding in turkey from past to today. *IJSTR* 2017; 3; 2.
- Akyüz B, Arslan K, İlgar EG. Türkiye’de yetiştirilen anadolu mandalarında butirofilin (BTN1A1) gen polimorfizminin HaeIII restriksiyon enzimi ile araştırılması. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg* 2017; 14;11-16.
- Barile VL, Galasso A, Pacelli C, Francillo M, Cigliano A, Penna L, Panfili M, Fiorini M, Borghese A. Conception rate in synchronized and artificially inseminated buffalo cows in two different seasons under field conditions, Piva G, Bertoni G, Masoero F, Bani P, Calamari L eds. In: *Recent Progress in Animal Production Science 1. Proc. XIII A.S.P.A. Congress, Piacenza 1999: 262-264.*
- Barile VL. Reproductive efficiency in female buffaloes. Borghese A ed. *Buffalo Production and Research, Food And Agriculture Organization of The United Nations, Rome 2005; Chapter IV.*
- Barkawi AH, Hafez YM, Ibrahim SA, Ashour G, El-Asheeri AK, Ghanem N. Characteristics of ovarian follicular dynamics throughout the estrous cycle of Egyptian buffaloes. *Anim Reprod Sci* 2009; 110; 326-334.
- Baruselli PS, Mucciolo RG, Visintin JA, Viana WG, Arruda RP, Madureira EH, Oliveira CA, Moloreo-Filho JR. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in buffalo (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology* 1997; 1531-1547.
- Berber RCA, Madureira EH, Baruselli PS. Comparison of two ovsynch protocols (GnRH versus LH) for fixed timed insemination in buffalo (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology* 2002; 57; 1421-1430.
- Chohan KR. Estrus synchronization with lower dose of pgf2 $\alpha$  and subsequent fertility in subestrous buffalo. *Theriogenology* 1998; 50; 1101-1108.
- Çenesiz M, Çenesiz S, Yarım GF, Nisbet C. Samsun yöresinde yetiştirilen mandaların farklı yaş ve cinsiyet ile gebelik durumunda hematolojik ve kan biyokimya değerlerindeki değişimler. *YYU Vet Fak Derg* 2011; 22 (1); 1-4.
- Das GK, Khan FA. Summer anoestrus in buffalo - a review. *Reprod Dom Anim* 2010; 45; 483-494.
- Gündoğan M, Uçar M, Tekerli M. The effect of climatic conditions and birth weight on age at first estrus in Anatolian Water Buffaloes. *Hay Araş Derg* 2003; 13; 5-8.
- Karuppanasamy K, Sharma RK, Phulia SK, Jerome A, Kavya KM, Ghuman SPS, Kumar H, Singh I, Krishnaswamy N. Ovulatory and fertility response using modified Heatsynch and Ovsynch protocols in the anovular Murrah buffalo (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology* 2017; 95; 83-88.
- Khan AS, Haider MS, Hassan M, Husnain A, Yousuf MR, Ahmad N. Equine chorionic gonadotropin (eCG) enhances reproductive responses in CIDR-EB treated lactating anovular Nili-Ravi buffalo during the breeding season. *Anim Reprod Sci* 2018; 196; 28-34.
- Küçükkebağcı M, Aslan S. Evcil dişi mandaların üreme özellikleri (derleme). *Lalahan Hay Araşt Enst Derg* 2002; 42; 55-63.
- Özdemir G, Özdemir A. Bingöl ili manda işletmelerinde bazı yetiştiricilik uygulamalarının biyogüvenlik kuralları açısından değerlendirilmesi. *Manas J Agr Vet Life Sci* 2018; 8; 1-8.
- Parmeggiani A, Seren E, Esposito L, Borghese A, Di Palo R, Terzano OM. Plasma levels of melatonin in buffalo cows. Shafie MM, Barkawi AH, Ibrahim SA, Sadek RR eds. *Prospects of buffalo production in the Mediterranean and the Middle East Proceedings of the joint ESAP, EAAP, FAO, ICAMAS and OIE Symposium, Cairo 1993; 401-403.*
- Perera BMAO. Reproductive cycles of buffalo. *Anim Reprod Sci* 2011;124; 194-199.
- Purohit GN, Thanvi P, Pushp M, Gaur M, Saraswat CS, Arora AS, Pannu SP, Gocher T. Estrus synchronization in buffaloes: Prospects, approaches and limitations. *Pharma Innovation* 2019; 8(2); 54-62.

- Ramadan TA, Sharma RK, Phulia SK, Balhara AK, Ghuman SS, Singh I. Effectiveness of melatonin and controlled internal drug release device treatment on reproductive performance of buffalo heifers during out-of-breeding season under tropical conditions. *Theriogenology* 2014; 82; 1296-1302.
- Rensis F, Lopez-Gatius F. Protocols for synchronizing estrus and ovulation in buffalo (*Bubalus bubalis*): a review. *Theriogenology* 67 (2007; 67; 209–216.
- Sarıözkan S. Türkiye’de manda yetiştiriciliğinin önemi (derleme). *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2011; 17; 163-166.
- Şahin A, Ulutaş Z, Yıldırım A. Türkiye ve dünyada manda yetiştiriciliği 1. *Gaziosmanpaşa bil araşt derg* 2013; 8; 65-70.
- Şekerden Ö, Borghese A, Köroğlu M, Uras H, Güzey YZ. Anadolu mandalarında suni tohumlama çalışmaları ve PRID (progesterone releasing intravaginal device) uygulamanın döl tutma oranı üzerine etkisi. *Tarım Bılım Derg* 2005; 11(2); 126-128.
- Terzano GM, Barile VL, Borghese A. Overview on reproductive endocrine aspects in buffalo. *J Buffalo Sci* 2012; 2; 127.
- Uçar M, Küçükkebaççı M, Çelebi M, Akalın HN. Murrah mandalarında postpartum anöstrus sorununun rektal muayene ve süt progesteron testi ile belirlenerek sorunlu hayvanlarda PRID+PMSG hormon tedavisinin fertiliteye etkisinin araştırılması. *Turk J Vet Anim Sci* 2002; 26; 1389-1393.
- Uçar M, Küçükkebaççı M, Gündoğan M, Uğuz C, Saban E. Reproductive performance of Anatolian water buffaloes during postpartum period. *Indian Vet J* 2004; 81; 784-786.
- Uçar M, Gündoğan M, Yılmaz O. Mandalarda mevsimsel üreme özellikleri ve foliküler dinamikler. *Hay Araş Derg* 2005; 15(2); 24-29.
- Verma A, Kumar P, Pandey AK, Kumari S, Kumar S. Anestrus is a major infertility issue in perspective of buffalo reproduction in India: a review. *Pharma Innovation* 2019; 8(2); 208-211.
- Wankhade PR, Diwakar, Kumar V, Talokar AJ, Aderao GN, Miranda CD, Gourkhede DP. Effect of photoperiod on the performances of buffaloes: a review. *J Entomol Zool Stud* 2019; 7(1); 177-180.
- Waqas M, Mehmooda MU, Shahzadb Q, Kausarc R, Sattara A, Naseerd Z. Comparative efficacy of G6G and Ovsynch protocols on synchronization and pregnancy rate in Nili–Ravi buffalo. *Anim Reprod Sci* 2016; 166; 9-14.

**KEDİLERDE MEME HİPERPLAZİSİNE KLİNİK YAKLAŞIM**  
**CLINICAL APPROACH TO MAMMARY HYPERPLASIA IN CATS**

**İpek İNAN<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Ondokuz Mayıs University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Samsun, Türkiye.*

<sup>1</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9215-5055>*

**Murat FINDIK<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>*Ondokuz Mayıs University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Samsun, Türkiye.*

<sup>2</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1408-2548>*

**ÖZET**

Dişilerde memenin büyüme ve gelişmesi, süt üretimi, sütün boşaltılması ve memenin involüsyonu farklı hormon sistemlerinin kontrolü altında gerçekleşmektedir. Progesteron ve büyüme hormonu meme bezinin gelişmesini sağlayacak şekilde görev alırken gebeliğin sonlarına doğru laktasyonu başlatmak için prolaktin, sütün indirilmesi için ise oksitosin rol oynamaktadır. Hormonlara maruz kaldıkça meme bezlerinde fizyolojik ya da patolojik değişiklikler şekillenmektedir. Özellikle genç, ilk östrüsünü gösteren, gebe ya da eksojen progesteron uygulaması yapılan kedilerde meme hiperplazisi görülürken, orta yaş ve sonrasında progesteron ve östrojen ya da eksojen progesteron uygulamalarına bağlı olarak malignant meme lezyonlarının görülme olasılığı artmaktadır. Meme hipertrofisi, juvenil meme hipertrofisi, fibroepitelyal hiperplazi olarak da bilinen meme fibroadenomatöz hiperplazisi ilk defa 1973 yılında Allen tarafından bildirilmiş olup meme bezinin neoplastik olmayan proliferatif bir bozukluğudur. Genç ve yetişkin kedilerde bir veya birden fazla meme bezini etkileyen, periduktal stromal hücrelerin ve interlobular kanalların 2-5 hafta gibi kısa bir sürede büyümesiyle karakterizedir. Kısırlaştırılmamış dişi kedilerde, gebe kedilerde ve progesterin uygulanan dişi ve erkek kedilerde görülebilmekte olup, görülme yaş aralığı 6 aylıktan 13 yaşa kadar değişkenlik gösterebilmektedir. Bu rahatsızlığın görülme sıklığının kedilerde tespit edilen meme kitlelerinin %20'sine kadar ulaşabileceği, prevalansının bölgelere göre farklılık gösterdiği, ev içi ve serbest dolaşım alanlarının üreme yönetimindeki kültürel farklılıkları yansıttığı kabul edilmektedir. Memelerdeki büyüme genellikle östrüsten 1-2 hafta sonra veya hormon tedavisinden sonraki 2-6 hafta içinde gözlenmektedir. Tedavi alta yatan nedene göre değişiklik göstermektedir. Ovaryohistektomi, progesteron reseptör blokörü olan aglepriston uygulamaları ve devam eden progesteron kullanımının sonlandırılması tedavi seçenekleri arasındadır. Bu derlemede kedilerde görülen meme hiperplazisi olgularına klinik yaklaşımdan bahsedilecektir.

**Anahtar kelimeler:** Kedi, Meme hiperplazisi, Ovaryohistektomi, Aglepriston

**ABSTRACT**

In females, the growth and development of the mammary, milk production, evacuation and involution of the mammary occur under the control of different hormonal systems. While progesterone and growth hormone are involved in the development of the mammary gland, prolactin plays a role towards the end of pregnancy to initiate lactation, and oxytocin plays a role in lowering milk. Physiological or pathological changes occur in the mammary glands when exposed to hormones. While mammary hyperplasia is observed especially in young, first estrus, pregnant or exogenous progesteron administered cats, the probability of malignant mammary lesions increases due to progesterone and estrogen or exogenous progesteron administrations in middle age and later. Mammary fibroadenomatous hyperplasia, also known as mammary hypertrophy, juvenile mammary hypertrophy,



and fibroepithelial hyperplasia, was first reported by Allen in 1973 and is a non-neoplastic proliferative disorder of the mammary gland. It is characterized by the growth of periductal stromal cells and interlobular ducts in a short period of 2-5 weeks, affecting one or more mammary glands in young and adult cats. It can be seen in unneutered female cats, pregnant cats, and female and male cats under progestin treatment, and the age range can vary from 6 months to 13 years. It is generally accepted that the incidence of this disease can reach up to 20% of the mammary masses detected in cats, its prevalence varies according to regions, and that indoor and free roaming areas reflect cultural differences in reproductive management. Mammary enlargement is usually observed 1-2 weeks after estrus or within 2-6 weeks after hormone therapy. Treatment varies according to the underlying cause. Ovariohysterectomy, applications of aglepristone, a progesterone receptor blocker, and discontinuation of ongoing progestagen use are among the treatment options. In this review, the clinical approach to mammary hyperplasia cases in cats will be discussed.

**Keywords:** Cat, Mammary hyperplasia, Ovariohysterectomy, Aglepristone

## 1. GİRİŞ

Dişilerde memenin büyüme ve gelişmesinde progesteron (P4) ve büyüme hormonu (BH), gebeliğin sonlarına doğru laktasyonu başlatmak için prolaktin (PRL), sütün indirilmesi için de oksitosin (OXT) görev almaktadır (Romagnoli & Lopate, 2012). Hormonlara maruz kaldıkça meme bezlerinde fizyolojik ya da patolojik değişiklikler şekillenmektedir. Özellikle genç, ilk östrüsünü gösteren, gebe ya da eksojen P4 uygulaması yapılan kedilerde meme hiperplazisi görülürken, orta yaş ve sonrasında P4 ve östrojen (E2) ya da eksojen P4 uygulamalarına bağlı olarak malign meme lezyonlarının görülme olasılığı artmaktadır (Zegers, 2011). Kedilerde ikisi torasik (T1 ve T2), ikisi abdominal (A1 ve A2) olmak üzere dört çift meme bezi bulunmakla birlikte bazen inguinal bölgede rudimenter meme bezleri de görülebilmektedir. (Giménez et al., 2010). Meme bezinin gelişimi ve büyümesi, stromal ve epitel hücreleri üzerindeki progesteron reseptörü (PR) aracılığıyla P4 kontrolü altındadır. Progesteron reseptörlerinin lokal aktivasyonu, her bir glandüler elemana özgü olan ve meme bezlerinin büyümesini uyaran spesifik ve sıralı bir dizi moleküllü tetikler. Fizyolojik koşullarda, E2 ve P4 arasındaki siklik değişiklikler, bu tür PR aracılı yolların siklik aktivasyonunu uyarır veya baskılar. Progesteron reseptör seviyelerindeki azalma, P4 aktivitesinin azalması ile ilişkilidir. Progesteronun meme duktal dallanmasında önemli bir rol oynadığı, östrojen reseptörü (ER) yoluyla etkili olan E2'nin duktal uzama ve çatallanma ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Payan-Carreira, 2013). Benign meme lezyonlarının kedilerde malign lezyonlardan daha az görülmesine rağmen, kedi meme bezi kitlelerinin ayırıcı tanısında dikkate alınması gereken önemli bir husustur. Bu lezyonlar arasında neoplastik ve non-neoplastik lezyonlar yer almaktadır. Fibroadenomatöz hiperplazi non-neoplastik lezyonlar arasında en sık görülenidir (Giménez et al., 2010). Meme hipertrofisi, juvenil meme hipertrofisi, fibroepitelyal hiperplazi olarak da bilinen meme fibroadenomatöz hiperplazisi kısırlaştırılmamış dişi kedilerde, gebe kedilerde ve P4 uygulanan dişi ve erkek kedilerde görülebilmekte olup yaş aralığı 6 aylıktan 13 yaşa kadar değişkenlik gösterebilmektedir. Görülme sıklığı kedilerde tespit edilen meme kitlelerinin %20'sine kadar ulaşabilmektedir. Memelerdeki büyüme genellikle östrüsten 1-2 hafta sonra veya hormon tedavisinden sonraki 2-6 hafta içinde gözlenmektedir (Payan-Carreira, 2013).

## 2. EPİDEMİYOLOJİ VE PATOGENEZ

Kedilerde fibroadenomatöz hiperplazinin patogenezi tamamen anlaşılmasa da P4 ve insülin benzeri büyüme faktörü-I (IGF-I) hastalıkta kilit rol oynamaktadır ve fibroadenomatöz meme bezlerinde karsinomla kıyaslandığı zaman çok daha yüksek BH, BH reseptörü (BHR), P4 ve IGF-I reseptörü eksprese edilmektedir (Gracianin et al., 2012; Furthner et al., 2018). Meme epitel hücrelerinde P4 ile indüklenen lokal BH ve IGF-I sentezi, hiperplazi gelişiminde rol oynayan patojenik mekanizmalardan biri olarak öne sürülmektedir (Loretti et al., 2005). Progesteron ya da sentetik analogları hipofiz bezi ve etkilenen meme bezleri tarafından BH'nin salınımı uyarır. Büyüme hormonunun mitojenik etkisine IGF-I aracılık etmektedir. Aynı mekanizma, insanda, köpekte ve kedide neoplazi ve jinekomasti dahil olmak üzere meme bezinde hücrelerin çoğalması ile karakterize fibroadenomatosisin gelişmesinden sorumludur (Jurka & Max, 2009).

Lobüler (intraduktal papiller) hiperplazi tipik olarak eksojen P4 verilmesi sonucu görülürken, fibroepitelyal hiperplazi meme bezlerinin genel olarak gelişmesi şeklinde kendini göstermekte ve tipik olarak östrüs sonrası kedilerde görülmektedir. Genelde ilk östrüs siklusu sonrası görülse de gebelik ya da yalancı gebelikte de görülebilmektedir (Fernandez & Martin, 2010). Hızlı büyümesine rağmen, fibroepitelyal meme lezyonları geri dönüşümlüdür ve meme kitlelerinin hacmi lüteolizden sonra veya eksojen P4 aktivitesinin sonunda düşme eğilimindedir (Payan-Carreira, 2013).

Fibroadenomatöz hiperplazinin tespiti sırasında, P4'ün etkisi mevcut olmayabilir ki bu ileri aşamalarda doku büyümesinin otonom karakterini göstermektedir. Hiperplazinin daha ileri evrelerinin otonom karakteri, birçok kedide, ovariektomiden sonra bile meme bezi tümörlerinin büyümesinin ilerlediği gerçeği ile gösterilmiştir. Meme hiperplazisinin steroidden bağımsız hale gelebileceği bir mekanizma, BH'nin, IGF'lerin veya her ikisinin yapısal üretimini içermektedir. İnsülin benzeri büyüme faktörleri, meme tümörü hücrelerini doğrudan bir otokrin veya parakrin şeklinde uyaramaktadır. Ek olarak, tümör hücresi büyümesi, dolaylı olarak, çevresindeki fibroblastların ürettiği IGF'lerin uyarıcı etkisiyle arttırılabilmektedir. Bu "otonomik" durumlarda bile, PR blokerlerinin, P4 etkili olduğunu gösterdiğini reseptör hala fibroadenomatöz hiperplazinin bu aşamasında merkezi bir rol oynamaktadır (Görlinger et al., 2002).

### 3. TANI VE TEDAVİ

Tanıda her zaman klinik bulgular ve anamnez göz önünde bulundurulmalıdır (Gaviria et al., 2010). Meme hiperplazisinde kedinin östrüs geçirmesi, kan P4 seviyelerinin artması veya daha önceden P4 tedavisi yapılmış olması ön tanıda yardımcı olsa da meme neoplazilerinden ayırımının yapılması gerekmektedir (Payan-Carreira, 2013). Yaklaşık %85'i malign karakterli olan neoplazilerin ayırıcı tanısı için etkilenen meme bezlerinin sonografik görüntülemesi karakteristik homojen ve granüler yapılar gösterse de ince iğne veya eksizyon biyopsi örneklerinin histopatolojik olarak incelenmesi önerilmektedir (Uçmak et al., 2011; Payan-Carreira, 2013). Radyolojik inceleme genellikle laterolateral pozisyonda yapılmaktadır. Ancak radyolojik görüntüleme tanı için yeterli olmamaktadır. Çünkü bu görüntüleme ile sadece meme bezlerindeki genişleme, sağlam karın duvarı ve hastalıklı meme bezleri içindeki homojenlik görülmektedir (Burstyn, 2010). Tedavi altta yatan nedene göre değişiklik göstermektedir. Ovaryohistektomi, PR blokörleri ve devam eden P4 kullanımının sonlandırılması tedavi seçenekleri arasındadır (Keskin et al., 2008; Little, 2011). Mastektomi operasyonu iyileşmedeki gecikme ve cerrahi komplikasyonlar sebebiyle ilk seçenek olarak düşünülmemektedir (Küçükbekir et al., 2020).

Kedilerde fibroadenomatosis kendiliğinden gerileyebilmektedir. Hastalığın hormonal bağımlılığı göz önüne alındığında, başlangıçta tedavi seçeneği olarak ovaryektomi önerilmiştir. Bununla birlikte, fibroadenomatosis her zaman ovaryektomiye yanıt vermez ve bazı durumlarda meme lezyonlarının büyümesi, ovaryumların çıkarılmasından sonra da devam edebilmektedir. Bu durumun, IGF'ler, BH veya her ikisi tarafından desteklenen lokal steroid-bağımsız mekanizmaların etkisinden kaynaklanabildiği ileri sürülmektedir (Gogny & Fiéni, 2016).

Yapılan bir çalışmada yaşları 11 ay ile 13 yaş arasında değişen 6 dişi, 1 erkek kedide 10 mg/kg dozdan deri altı aglepriston uygulanmış olup, tedavi 4 ile 5 gün sürmüş ve ilk enjeksiyondan ortalama 5 gün sonra meme dokusunun büyüklüğünde önemli bir küçülme ve dokunun sertliğinde azalma ile elastikiyetinde ve yumuşaklığında artış gözlenmiştir. Hiperplastik meme bezlerinin involüsyonu 3 ile 4 hafta içerisinde tamamlanmıştır. Yine ovaryektomi sonrası da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Olguların hiçbirinde yan etkiye rastlanmamıştır (Wehrend et al., 2001).

Görlinger et al. (2002) tarafından yapılan bir çalışmada meme hiperplazili 10 kedide östrüsün önlenmesi için eksojen P4 kullanıldığı, 7 kedinin yakın zamanda östrüs gösterdiği ve tedavi sürecinde iken 2'sinin gebe kaldığı, 2 erkek kedinin davranış problemleri için delmadion asetat uygulandığı, 2 dişi ve 1 erkek kedinin endojen veya eksojen P4'e maruz kalmadığı bildirilmiştir. Kediler, PR blokörü olan aglepristonun subkutan enjeksiyonları ile haftada bir kez (n=7, 20 mg/kg) veya iki ardışık gün (n=15, 10 mg/kg/gün) ile tedavi edilmiştir. Biri dışında tüm kediler 1-4 haftalık tedaviden sonra tamamen ve kalıcı olarak iyileşmiştir.

Yapılan başka bir çalışmada östrüsün baskılanması amacıyla medrokriprogesteron asetat uygulanan 9 aylık dişi kedide uygulamadan iki hafta sonra meme hiperplazisi şekillenmiş ve 1, 2 ve 7. günlerde 10

mg/kg dozlarda subkutan aglepriston enjeksiyonu yapılmış ve 21. günde meme bezi hiperplazisinin tamamen regrese olduğu bildirilmiştir (Nak et al., 2004).

Vitasek & Dendisova (2006) tarafından yapılan çalışmanın materyalini östrüsün baskılanması için proligeston kullanılan bir kedi oluşturmaktadır. Uygulamadan 4 hafta sonra meme bezlerinde büyüme şekillenmiştir. Tedavi amacıyla aglepriston 10 mg/kg dozdan subkutan olarak 1., 2., 7., 14. ve 21. günlerde uygulanmıştır. Uygulamayı takiben 5 günde regresyon başlamış olup 6 haftada tamamen iyileşmiştir.

Jurka & Max (2009) tarafından yapılan çalışmada hiperplazili kedilere tedavi amacıyla aglepriston vermiş, tedavinin 1., 7. ve 10. günlerinde hematolojik ve serum biyokimyasal parametreleri incelemiştir. Tedavinin amacı aglepristonun klinik etkinliğini ve uzun vadede tekrarlama sıklığını izlemek ve tedavi sonrası kedilerin fertilitelerini değerlendirmektir. Çalışmadaki 14 kediden 7 tanesinin spontan, diğerlerinin medroksiprogesteron asetat uygulamasından 3-4 hafta sonra klinik belirti gösterdikleri bildirilmiştir. Aglepriston tedavinin 1. ve 2. günlerinde 10 mg/kg dozdan subkutan olarak uygulanmış ve klinik belirtiler gözlenmeye kadar 1 hafta aralıklarla uygulanmaya devam etmiştir. Spontan şekillenen kediler 3-4 haftalık, eksojen P4 uygulanan kediler ise 4-6 haftalık tedavi görmüşlerdir. Altı kedide sekonder inflamasyon belirtilerini azaltmak için %4 tolfenamik asit tedavinin ilk 2 gününde 0,1 ml/kg dozdan subkutan verilmiştir. Tedavi sonrası kediler 12 ay boyunca takip edilmiş ve nükslerin sıklığı ve kedilerdeki doğurganlıklar kaydedilmiştir. Sekiz kediye tedavi sonrası ovaryohistektomi yapılırken diğer 6 kedi çiftleştirilmiş ve 4 tanesi 1 veya daha fazla doğum yapmıştır. Gebelik boyunca hiçbir kedide fibroadenomatöz değişiklik saptanmamıştır. Bakılan ilk tam kan sayımında RBC sayısı, hemoglobin konsantrasyonu ve PCV yüksek bulunmuştur. Yazarlar bunun gelişen meme dokusunda sıvının dehidrasyonundan ve/veya ayrılmasından kaynaklanabileceğini düşünmektedir. Bu nedenle bireysel vakalarda intravenöz sıvı takviyesi düşünülmelidir. Tedavi süresince toplam ve diferansiyel lökosit sayıları da değişmiştir. Bu değişiklik meme hücrelerinde ikincil inflamasyon ile ilgili olabilmektedir. İnflamasyon azaldıkça lökosit sayısı referans değerlerine geri dönmüştür. Daha önemlisi, aglepriston kullanımı nedeniyle lökosit sayısında bir artış gözlenmediği sonucuna varılmıştır. Tedavi süresince ALT ve ALP aktiviteleri artmış olsa da referans aralıkların üzerine hiçbir zaman çıkmamıştır. Bu doğrudan aglepriston kullanımıyla ilişkili olabilmektedir. Tedavi boyunca BUN veya kreatin konsantrasyonlarında önemli bir değişiklik olmamıştır. Bu da aglepristonun böbrek fonksiyonları üzerinde olumsuz bir etkisi olmadığını göstermektedir (Jurka & Max, 2009).

Uçmak et al. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada, bir ay öncesinde östrüs gösteren 2 yaşındaki kedide meme hiperplazisi ve süt sekresyonu tespit edilmiş, serum P4 ve E2 seviyeleri sırasıyla 2,96 ng/ml ve <5 pg/ml olarak bulunmuştur. Tedavisinde 15 mg/kg dozdan aglepriston haftada 2 kez, 3 hafta boyunca subkutan ve ilk 7 gün 5 µg/kg kabergolin oral olarak kullanılmıştır. Aynı zamanda memelere günlük kısa süreli soğuk kompresler de uygulanmıştır. Tedaviden 3 hafta sonra meme bezlerinde belirgin bir gerileme ve östrüs davranışları gözlenmiş olup profilaktik amaçlı olarak aynı tedaviye 3 hafta daha devam edilmiş ve başlangıçtan sonraki 6. haftada meme bezlerinin tamamen regrese olduğu bildirilmiştir. Serum P4 ve E2 konsantrasyonları sırasıyla 0,142 ng/ml ve <590 pg/ml olarak ölçülmüş olup tedavi süresince aglepriston ve kabergolin uygulamalarına bağlı lokal ya da sistemik yan etki görülmediği belirtilmiştir.

Ülseratif fibroadenomatöz hiperplazili 2 gebe kedi Furthner et al. (2018) tarafından ele alınmıştır. Kedilerden ilki 2 yaşında olup gebeliğin orta döneminde klinik olarak meme hiperplazisi oluşumu gözlenmiş, tedavi olarak aglepriston önerilmiş ancak hasta sahipleri yavru istedikleri için tedaviyi reddetmişlerdir. Doğumdan 6 gün önce memelerden 3 tanesinde ülseratif lezyon gelişmiş ve hasta hospitalize edilerek günde 2 kez 15 mg/kg dozdan amoksisilin-klavulonik asit ve yara yarasına günde 1 kez %10 betadin jel uygulanmıştır. Doğumdan 1 gün sonra hasta sahipleri kil tedavisi ile memelerin günlük bakımlarını yapmışlardır. Sütten kesildikten sonra memedeki yaralar tamamen iyileşmiş ancak hiperplazinin regresyonu 6 ayı bulmuştur. Bir yıl aradan sonra kedi tekrar doğum yapmış ve meme hiperplazisi rapor edilmemiştir. Diğer kedi ise 1 yaşında olup gebeliğin orta döneminde meme hiperplazisi görülmüş ve doğumdan 2 gün önce memede ülserasyon şekillenmiştir. Anneye herhangi bir tedavi uygulanmamış ve yavruların emmelerine izin verilmiş ve yara doğumdan sonra kendiliğinden iyileşmiştir. Yavrulardan biri oküler ve nazal akıntı geçirmiş ve sütten kesilme öncesinde ölmüş, diğeri yetişkinliğe erişebilmiştir. Bu iki olgu, ülserlerin ortaya çıkmasına rağmen ilişkili bir enfeksiyon

olmadığı sürece cerrahi bir yaklaşım gerekemeyebileceğini ve lezyonların yakın bir klinik takiple gerileyebileceğinin mümkün olduğunu göstermiştir (Furthner et al., 2018).

Yapılan bir çalışmada daha önceden östrüsün baskılanması için sentetik P4 kullanılan 1,5 yaşlı kedide meme hiperplazisi gelişmiş ve oral olarak günde 2 kez 20 mg/kg amoksisilin, günde 2 kez 0,02 mg/kg deksametazon ve günde 1 kez 4 tablet multivitamin reçete edilmiştir. Bu ilaçların 5 gün verilmesinden sonra meme bezlerinin kıvamında yumuşama olduğu gözlenmiş ve tedaviye 0,5 mg/kg deksametazonun subkutan enjeksiyonları şeklinde devam edilmiştir. İmmun sistemi destekleyici olarak günde 1 kez 0,5 ml Biosol enjeksiyonu yapılmış, deksametazon anti-inflamasyonu uyarıp, proliferasyonu azaltmak amacıyla uygulanmıştır (MisacıYuniarti & Primarizky, 2018).

#### 4. SONUÇ

Kedilerde meme hiperplazi olguları sahada genellikle meme tümörü ile karıştırılmaktadır. Olgunun tedavisinde mastektomi en son seçenektir. Zira olgu hormonal kaynaklı özellikle de P4 kaynaklı olarak şekillenmektedir ve bundan dolayı asıl tedavi yöntemi P4'ün etkisinin ortadan kaldırılmasıdır. Bu ovaryektomi ya da ovaryohistektomi ile yapılabileceği gibi bu etki aglepriston gibi PR blokörleri kullanımı ile de mümkün olabilir. Ancak P4 bir defa salgılandıktan sonra bir süre daha kanda varlığını devam ettirebileceği için operasyon sonrasında meme hiperplazisi büyümeye devam edebileceği de unutulmamalıdır. Dolayısıyla aglepriston uygulaması ile PR'lerin bloke edilerek P4'ün etkisinin önlenmesi ya da en azından operasyon ve aglepriston tedavisinin birlikte uygulanması daha doğru bir yaklaşım olarak değerlendirilmektedir. Semptomlar arasında çok gözlenmemesine rağmen bazı olgularda süt sekresyonu ile de karşılaşılabilir. Bu durumda tedaviye kabergolin eklenmesi yerinde olacaktır. Bazı kedilerde meme hiperplazinin aşırı büyümesi nedeni ile şekillenen dolaşım bozukluğuna bağlı ve memelerin travmalara açık hale gelmesi nedeni ile yaralanmalar görülebilir ki bu durumda da yara tedavisine yönelik uygulamalar yapılmalıdır. Olgudan korunma bir dereceye kadar mümkündür. Ülkemizde seksüel siklusların baskılanması için ticari beşeri P4 preparatları maalesef sıklıkla kullanılmakta ve bu eksojen uygulamalar nedeniyle olgunun insidensinde artışlar şekillenmektedir. Beşeri P4 preparatlarının kedi ve köpeklerde kullanılmaması buna benzer komplikasyonların insidensini azaltabilecektir. Diğer bir korunma yöntemi ise hasta sahiplerince doğum yapması istenmeyen, damızlık olarak kullanılmayacak kedilerin en uygun ve kısa sürede kısırlaştırılarak endojen P4 etkisinin ortadan kaldırılması olacaktır.

#### 4. KAYNAKLAR

Burstyn, U. (2010). Management of mastitis and abscessation of mammary glands secondary to fibroadenomatous hyperplasia in a primiparturient cat. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 236(3), 326-329.

Fernandez, S., & Martin, J. A. (2010). Clinical approach to mammary gland disease In: England, G., & von Heimendhal, A., editors. *Manual of canine and feline reproduction and neonatology*, 2nd Ed., Quedgeley, British Small Animal Veterinary Association, 155-165.

Furthner, E., Pasquet, I., Niewiadomska, Z., Fontbonne, A., & Maenhoudt, C. (2018). Ulcerative fibroadenomatous hyperplasia in pregnant queens: two medically managed cases. *Veterinary Record Case Reports*, 6, 1-5.

Gaviria, E. F. B., Bonilla, D. E., & Gómez, A. L. (2010). Hiperplasia broepitelial mamaria felina: reporte de un caso. *CES Medicina Veterinaria Zootecnia*, 5(1), 70- 76.

Giménez, F., Hecht, S., Craig, L. E., & Legendre, A. M. (2010). Early detection, aggressive therapy: optimizing the management of feline mammary masses. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 12, 214-224.

Gogny, A., & Fiéni, F. (2016). Aglepristone: A review on its clinical use in animals. *Theriogenology*, 85, 555-566.

Görlinger, S., Kooistra, H. S., van den Broek, A., & Okkens, A. C. (2002). Treatment of fibroadenomatous hyperplasia in cats with aglepristone. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 16, 710-713.

- Gracanin, A., Gier, J., Zegers, K., Bominaar, M., Rurreman, G. R., Schaefers-Okkens, A. C., Kooistra, H. S., & Mol, J.A. (2012). Progesterone reseptor isoforms in the mammary gland of cats and dogs. *Reproduction in Domestic Animals*, 47(6), 313-317.
- Jurka, P., & Max, A. (2009). Treatment of fibroadenomatosis in 14 cats with aglepristone – changes in blood parameters and follow-up. *Veterinary Record*, 165, 657-660.
- Keskin, A., Yılmazbaş, G., Şimşek, G., & İntaş, K. S. (2008). Mammary hyperplasia in a pregnant queen. *Australian Veterinary Practitioner*, 38, 75.
- Küçükbekir, Ç. N., Uçmak, Z. G., Kırşan, İ., & Tek, Ç. (2020). A case of feline fibroepithelial hyperplasia in a male cat. *Journal of Istanbul Veterinary Sciences*, 4(1), 8-12.
- Loretti, A. P., da Silva Ilha, M. R., Ordas, J., & Martin de las mulas, J. M. (2005). Clinical, pathological and immunohistochemical study of feline mammary fibroepithelial hyperplasia following a single injection of depot medroxyprogesterone acetate. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 7, 43-52.
- MisacoYuniarti, W., & Primarizky, H. Case report: mammary gland hyperplasia in a domestic shorthair cat. In: *Prosiding/Proceeding: Musyawarah Nasional ke III Asosiasi Farmakologi dan Farmasi Veteriner Indonesia=3rd National Conference of Indonesia Veterinary Pharmacy and Pharmacology Association. P4IPVI, Surabaya*, 1-6.
- Nak, D., Nak, Y., Seyrek-İntaş, K., & Kumru, İ. H. (2004). Treatment of feline mammary fibroadenomatous hyperplasia with aglepristone. *Australian Veterinary Practitioner*, 34(4), 161-162.
- Payan-Carreira, R. (2013). Feline mammary fibroepithelial hyperplasia: a clinical approach. *Insights from Veterinary Medicine*, 215-232.
- Romagnoli, S., & Lopate, C. (2012). Control of mammary gland function in the bitch and queen: a review. *Clinical Theriogenology*, 4(3), 196-205.
- Uçmak, M., Enginler, S. Ö., Gündüz, M. C., Kırşan, İ., & Sönmez, K. (2011). Treatment of feline mammary fibroepithelial hyperplasia with the combination of aglepristone and cabergoline. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 37(1), 69-73.
- Vitasek, R., & Dendisova, H. (2006). Treatment of feline mammary fibroepithelial hyperplasia following a single injection of proligestone. *Acta Veterinaria Brno*, 75, 295-297.
- Wehrend, A., & Hospes, R. (2010). Treatment of feline mammary fibroadenomatous hyperplasia with a progesterone antagonist. *Veterinary Record*, 148, 346-347.
- Zegers, K. (2011). Feline fibroadenomatous hyperplasia and mammary carcinoma Research project. *University of Utrecht*, 1-44.

**KEDİ VE KÖPEK NEONATLARINDA BAKIM VE BESLEME**  
**CARE AND FEEDING IN CAT AND DOG NEONATES**

**İpek İNAN<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Ondokuz Mayıs University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Samsun, Türkiye.*

<sup>1</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9215-5055>*

**Murat FINDIK<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>*Ondokuz Mayıs University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Samsun, Türkiye.*

<sup>2</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1408-2548>*

**ÖZET**

Neonatal dönem, işitsel ve görsel yetenekler ile uygun spinal refleksler gibi tamamlanmamış nörolojik işlevler nedeniyle, yavruların anneye tam bağımlılığı ile karakterizedir. Annenin ölümü, yavruları terk etmesi, memeden gelen sütün yetersizliği ya da mastitis, agresyon, yavru sayısının fazla olması, malformasyonlar, enfeksiyon veya travma gibi sebeplerden dolayı yenidoğanlara özel bakım ve besleme koşulların ayarlanması gerekebilmektedir. Bunun yanında güç doğum ve sezaryen sonrası fetal depresyon görülmektedir. Fetal depresyonun ilk ve en önemli nedeni hipoksi, ikinci nedeni ise anneye verilen anestezi ajanları olarak gösterilmektedir. Bu neonatların bakımı resüsitasyon işlemleriyle başlamaktadır. Yenidoğan resüsitasyon stratejisi, ventilasyonu ve dolaşımını destekleyen yöntemler kullanarak yavruları sıcak tutmak ve hipoksik dokulara oksijenin ulaşması için yardımcı olmaya odaklanmaktadır. Resüsitasyon işlemleri sonrası her bir yavru için Apgar skorlaması yapılmalıdır. Apgar skorlamasında dakikadaki kalp atım hızı ile solunum sayısı, ağlama, emme refleksi, hareketlilik ve müköz membran rengi değerlendirilmektedir. Skor sonucu 0-3 olanlar kritik, 4-6 olanlar orta dereceli ve 7-10 olanlar normal olarak kabul edilmektedir. Neonatlarda mortalite oranı ilk bir hafta içinde yüksek olmakla birlikte %17 ila %30 arasında değişmektedir. Kedi ve köpek yavruları yaşamlarının ilk bir haftasında günlerinin %80'ini uyuyarak geçirmekte ve 2-4 saatte bir süt emmektedir. Beyin gelişimi tamamlanmadığı için bazı nöromusküler refleksler yoktur ve mevcut motor beceriler emme, emekleme ve ses çıkarma üzerindedir. Yaşamın ikinci haftasında kedi ve köpek yavruları sürünmeye başlamakta ve vücut ısısı normal yetişkin seviyelerine doğru yavaşça yükselmektedir. Yavrular üçüncü ve dördüncü haftalarda sese yönelmeye başlamakta ve mesafe algısı daha net bir hale gelmektedir. Bu derlemede dört haftalık yaşa kadar olan kedi ve köpek neonatlarının bakım ve beslenmeleri ile ilgili güncel bilgiler derlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Apgar, Kedi, Köpek, Neonat, Bakım, Besleme

**ABSTRACT**

The neonatal period is characterized by the complete dependence of the offspring on the mother, due to incomplete neurological functions such as auditory and visual abilities and appropriate spinal reflexes. Neonates can be cared for and fed due to reasons such as death of the mother, abandonment of the offspring, insufficient milk or mastitis, aggression, excessive number of offspring, malformations, infection or trauma. In addition, fetal depression is observed after dystocia and cesarean section. The first and most important cause of fetal depression is hypoxia, and the second reason is shown as anesthetic agents given to the mother. Care of these neonates begins with resuscitation procedures. The neonatal resuscitation strategy focuses on helping to keep pups warm and oxygen reach hypoxic tissues using methods that promote ventilation and circulation. Apgar scoring should be done for each pup after resuscitation procedures. In Apgar scoring, heart rate per minute, respiratory rate, crying, sucking reflex,

motility and mucous membrane color are evaluated. A score of 0-3 is considered critical, 4-6 is considered moderate, and 7-10 is considered normal. Although the mortality rate in neonates is high in the first week, it varies between 17-30%. Newborns spend most of their days (80%) sleeping in the first week of their lives, and they suckle for short periods (every 2-4 hours). Because brain development is incomplete, some neuromuscular reflexes are absent and current motor skills are sucking, crawling, and vocalizing. In the second week of life, kittens and puppies begin to crawl and their body temperature slowly rises to normal adult levels. In the third and fourth weeks, puppies begin to turn to sound and the perception of distance becomes clearer. In this review, current information on the care and feeding of cat and dog neonates up to four weeks of age has been compiled.

**Keywords:** Apgar, Cat, Dog, Neonatal, Care, Feeding

## 1. GİRİŞ

Neonatoloji, yenidoğanların bakımı, gelişimi ve hastalıklarıyla ilgilenen bilim dalıdır. İnsanlarda bu bir çocuğun hayatının ilk 4 haftasını temsil etmekte ve bu süreçte birçok kritik olay meydana gelebilmektedir. Kedi ve köpek yavrularında neonatolojinin belirlenmiş bir tanımı bulunmamaktadır. Bununla birlikte, çoğu veteriner hekim, yaşamın ilk 2-3 aylık süresini, tıpkı insanlarda olduğu gibi, en hızlı değişikliklerin meydana geldiği neonatal dönem olarak kabul etmektedir. Neonatal dönem, işitsel ve görsel yetenekler ile uygun spinal refleksler gibi tamamlanmamış nörolojik işlevler nedeniyle, yavruların anneye tam bağımlılığı ile karakterizedir (Casal, 2010).

Annenin ölümü, yavruları terk etmesi, sütün yetersizliği ya da mastitis, agresyon, yavru sayısının fazla olması, malformasyonlar, enfeksiyon veya travma gibi sebeplerden dolayı yenidoğanların bakım ve beslemelerinin yapılması gerekmektedir (Casal, 2012). Neonatlarda mortalite oranı ilk bir hafta içinde yüksek olmakla birlikte %17 ila %30 arasında değişmektedir (Vassalo et al., 2015).

Güç doğumlar (dystocia) köpeklerde sıklıkla görülmektedir (Johnston, 2001). Fetüsün doğum kanalından geçememesi birçok sebebe bağlı olmaktadır. O'Neill et al. (2018) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada köpeklerde güç doğum prevalansının %3,7 olduğu tespit edilmiştir. Güç doğum mortalitesi annede %1, yavrularda ise %20 oranındadır (Daniels, 2018). Kedilerde ise güç doğum %0,4-8,0 arasında görülmektedir (Holst, 2017). Medikal veya cerrahi müdahalenin zamanlaması yenidoğanın hayatta kalma şansını büyük oranda etkilemektedir (Runcan & Coutinho da Silva, 2018). Güç doğum görülme olasılığı yüksek ırklar arasında Bulldog, Chihuahua, Dachshund, Minyatür poodle, Pekingese, Pomeranian ve Yorkshire terrier yer almaktadır. Kedilerde yaygın olarak görülmemekle birlikte İran kedileri predispoze olabilmektedir (Barber, 2003). Güç doğum ve sezaryen operasyonu sonrası yenidoğanlarda hipoksi ve anestetik maddelerin yan etkilerine bağlı olarak depresyon şekillenmekte ve resüsitasyon işlemlerinin yapılması gerekmektedir (Gültiken & Anadol, 2016).

## 2. NEONATAL RESÜSİTASYON VE BİR AYLIK SÜREÇ

Güç doğum ve sezaryen sonrası fetal depresyon iki ana nedene sahiptir; ilk (ve genellikle en önemli) nedeni hipoksi, ikincisi ise anneye verilen anestetik ajanlardan kaynaklanan depresyondur. Yenidoğan resüsitasyon stratejisi, ventilasyonu ve dolaşımını destekleyen yöntemler kullanarak yavruları sıcak tutmak ve hipoksik dokulara oksijen verilmesi konusunda yardımcı olmaya odaklanmaktadır (Trass, 2008).

Fetal membranların uzaklaştırılması amacıyla yenidoğanlar havlu ile kurulanmalı, ağız ve burun boşluklarındaki sıvı enjektör veya bebek burun aspiratörü ile çekilmelidir. Yenidoğan baş aşağı pozisyonda nazikçe sallanarak yavru sıvılarının boşaltılması sağlansa da beyin sarsıntısı sebebiyle serebral hemoraji oluşma ihtimalinden dolayı önerilmemektedir (Rickard, 2011). Umbilikal kordona yaklaşık 2 cm mesafeden klemp koyulmalı, ligatür atılmalı ve ardından klorheksidin veya batikon uygulanmalıdır (Johnson & Casal, 2012). Normalde yenidoğanların mukozaları kırmızı veya koyu pembe renkli, dakikada solunum sayısı 10'un üzerinde ve yavrular ağlamaktadır (Gundy, 2006; Veronesi et al., 2009). Kurulama, temizleme ve ovma işlemleri sonrası 60 saniye içinde solunum başlamalıdır. Mukozaların siyanotik veya soluk olması durumunda maskeyle 1 lt/dk oranında oksijen takviyesi yapılmalıdır (Johnson & Casal, 2012). Maskelemenin etkin olmadığı durumlarda kalp atım hızı 3-5 dakika içerisinde düşmektedir. Böyle bir durumda akciğerleri pozitif basınçla şişirmek ve

oksijenizasyonunu sağlamak amacıyla 2 mm endotrakeal tüp ya da büyük boy intravenöz katater ile entübasyon yapılmaktadır (Rickard, 2011). Jen Chung akupunktur noktasından solunum uyarılabilmektedir. Bu amaçla 25 G iğne, nazal filtrumdan batırılmaktadır (Johnson & Casal, 2012).

Silva et al. (2009) çalışmalarında sezaryen ile doğumu gerçekleşen yavruların normal doğumla dünyaya gelen yavrulara göre solunum sayılarının yaşamın ilk 60 dakikasında daha düşük oranlarda olduğunu belirtmektedir. Ayrıca siyanotik müköz membranlar sezaryenle doğan yavrularda %85 oranlarında gözlenirken, normal doğan yavrularda oranların %30'larla sınırlı kaldığı bildirilmektedir.

Doxapram merkezi sinir sistemi uyaranları yoluyla çalışmaktadır. Oksijen takviyesini takiben 0,1 ml/kg IV verildiğinde düşük frekanslı solunum çabalarını arttırmada faydalı olması muhtemeldir (Traas, 2008). Eğer beyin hipoksik ise periferik sinir sistemi yoluyla gelen bir uyarının sentral sinir uyaranlarına iletiminde aksaklık meydana gelmektedir. Bu nedenle hipoksik apneli neonatlarda doxapramın etkili sonuç vermesi mümkün olmamaktadır (Rickard, 2011). Benzer şekilde hipoksi durumunda nalokson da etkili değildir. Anneye opioid verilir transplasental yolla yavruya depresyona sebep olduğunda nalokson opioidlerin etkisini ortadan kaldırmak için 0,1 ml/kg dozda IM olarak kullanılabilir (Moon et al., 2001; Rickard, 2011).

Kardiyak stimülasyon için, göğüs kompresyonları yapılmalı ve solunum takip edilmelidir. Hiçbir gelişme olmazsa kardiyak arrest oluşturmak amacıyla epinefrin tercih edilebilmektedir. Epinefrin ortalama arteriyel kan basıncını yükseltme ve kalbe taşınan oksijen miktarını arttırmada etkilidir. Epinefrinin önerilen doz aralığı IV veya IO yolla 10-200 µg/kg'dır. Hipertansiyon riski nedeniyle daha yüksek dozlarının dikkatli kullanılması önerilmektedir. Trakeal mukozada vazokonstriksiyona sebep olacağından ilacın endotrakeal uygulamasından kaçınılmalıdır (Rickard, 2011). Atropinin köpeklerde 14 günlük, kedilerde ise 11 günlük yaşa gelene kadar kalp atımı üzerine etkisi bulunmamaktadır. Ayrıca, düşük kalp atım hızı sıklıkla miyokardiyal hipoksiye bağlı olup, oksijenizasyon sağlanmadığı sürece artan oksijen ihtiyacı yüzünden miyokardiyal hasar meydana gelebilmektedir. Bu sebeple bradikardili yenidoğanlarda atropin ne etkili olmakta ne de önerilmektedir (Traas, 2008).

Sodyum bikarbonatın kullanımı tartışmalıdır, fakat resüsitasyonun 20-30 dakikadan uzun sürdüğü durumlarda neonatal asidozisin tedavisinde başarılı olduğu düşünülmektedir. Ventilasyonun düzgün gerçekleştirilebildiği, ancak diğer tedavilere yanıt vermediğinde kullanılabilir. İlacın %5'lik dekstroz ile 1:1 oranında dilüe edilerek (0,5 mEq/ml) 2-3 dakika içerisinde 0,5-1 mEq/ml/kg dozundan ya da 0,5-1,0 ml/kg dozundan 1:2 oranında steril su veya serum fizyolojik ile dilüe edilerek umbilikal ven yoluyla yavaş uygulanması tavsiye edilmektedir (Traas, 2008; Rickard, 2011).

Resüsitasyon işlemleri sonrası her bir yavru için Apgar skorlaması yapılmalıdır. Apgar ilk olarak 1953 yılında Dr. Virginia Apgar tarafından geliştirilmiş ve yenidoğan bebeklerin dış görünüşü, nabızı, yüz buruşturması, hareketliliği ve solunumu gibi özelliklerine bakılarak puan verilmesi esasına dayanmaktadır. Köpek ve kedi neonatlarının da içinde bulunduğu birçok hayvan türünde modifiye Apgar skorlama sistemine (tablo 1) sıklıkla başvurulmaktadır (Wilborn, 2018). Skor sonucu 0-3 olanlar kritik, 4-6 olanlar orta dereceli ve 7-10 olanlar normal olarak kabul edilmekte ve kritik olan yavrulara derhal resüsitasyon işlemlerinin yapılması gerekmektedir (Titkova et al., 2017).

**Tablo 1.** Modifiye Apgar skorlaması (Johnson ve Casal, 2012'dan uyarlanmıştır).

Parametreler	Skorlama		
	0	1	2
<b>Kalp atım hızı/dk</b>	<180	180-220	>220
<b>Solunum hızı/dk ve ağlama</b>	<6 Yok	6-15 Orta	>15 Enerjik
<b>Hareketlilik ve refleks</b>	Yok	Zayıf	Aktif
<b>Müköz membran rengi</b>	Siyanotik	Solgun	Pembe

Kedi ve köpek yavruları yaşamlarının ilk bir haftasında günlerinin %80'ini uyuyarak geçirmekte ve her 2-4 saatte bir süt emmektedir. Beyin gelişimi tamamlanmadığı için bazı nöromusküler refleksler yoktur ve mevcut motor beceriler emme, emikleme ve ses çıkarma üzerinedir. Yenidoğanlar sadece koku,



dokunma ve ağırlı uyarana cevap vermektedir. Anne kedi ve köpekler ürogenital bölgeyi yalayarak idrar ve defekasyonu uyarmaktadır. Yavrular yaşamlarının ilk 3 günlerinde kafalarını kaldıracakları ve 1 haftalık olana kadar koordineli bir şekilde emekleyebilmelidir.

Yavrular doğduklarında çok az derialtı yağ tabakasına sahiptir, bu sebeple ısı yalıtımları oldukça zayıftır. Başlangıçta, vücut ısısı sempatik sinir sisteminin kontrolü altında olan (titreme termogenezi) kahverengi yağ metabolizması ile üretilmektedir. Yenidoğanlar annelerine ve meme bezlerine yakın oldukları sürece, termal dengeyi koruyabilmekte ve fazla ısı kaybı olmamaktadır. Bununla birlikte, yavrular besin almaya başladıkça, metabolik oranı artmakta ve bu da vücut ısısını yükseltmektedir. Titreme ve vazokonstriktif mekanizmaları yaklaşık 6-8 günlükken başlayabilmekte, ancak yaklaşık 6. haftaya kadar yetişkinlere benzer bir vücut sıcaklığına sahip olabilmektedirler (Casal, 2010). Doğumdan sonra yavruların vücut ısısı düşmekte ve 40 dakikada en düşük seviyeye ulaşmaktadır. Doğumu takip eden bir hafta içinde yenidoğan yavruların rektal vücut ısıları kademeli olarak yükselerek 35-37,2°C'leri bulmaktadır (Traas, 2008). Kalp (160-200 atım/dk) ve solunum (10-20/dk) hızları doğumda düzensiz olabilmektedir. Yaşamlarının ilk bir haftası boyunca kalp (200-220 atım/dk) ve solunum (16-35/dk) hızları düzene girmeye başlamaktadır. Umbilikal kordon ilk gün kurumakta ve 3-4 günlükken düşmektedir (Casal, 2010).

Yaşamın ikinci haftasında kedi ve köpek yavruları sürünmeye başlamakta ve vücut ısısı normal yetişkin seviyelerine doğru yavaşça yükselmektedir. Kedi yavruları 7-10 günlükken, köpek yavruları 10-12 günlükken doğum ağırlıklarının iki katına erişmektedir. Gözler 10-12 günlükken açılmaya başlamaktadır (Casal, 2010).

Yavrular üçüncü ve dördüncü haftalarda sese yönelmeye başlamakta ve mesafe algısı daha net bir hale gelmektedir. İriste pigmentleşme (mavi-gri renkte) çok iyi değildir ve artan sıvı nedeniyle kornea bulutludur. Kedi yavruları değişik derecelerde şaşlı olabilmektedirler. Dış kulak kanalları 14-16 günlükken açılmaktadır. Üçüncü haftanın sonunda yavrular ayakta durup iyi derecede postural reflekslere sahip olabilirler. Dördüncü haftada çevrelerini keşfetmeye başlamaları gerekmektedir (Casal, 2010). Tablo 2'de fiziksel muayene parametreleri verilmiştir.

**Tablo 2.** Köpek ve kedi neonatlarında fiziksel muayene parametreleri (Sturgess, 2004'den uyarlanmıştır).

Yaş (gün)	Rektal ısı (°C)	Kalp atım hızı/dk	Solunum hızı/dk
0-7	35-37	200-250	15-35
8-14	38	70-220	
15-28			
29-35	Yetişkin		Yetişkin
>35			

### 3. NEONATLARIN BESLENMESİ

Yenidoğanın vücut ağırlığı artmıyor veya zayıflıyorsa tamamlayıcı besleme zorunlu hale gelmektedir. Genel olarak, yavru köpek ve kediler günlük gereksinimlerini hayatlarının ilk birkaç haftasında günde 4-5 öğün içinde alabilmelidir. Kediler 80-120 g ağırlığında doğarlar ve haftada 70 ile 100 g arasında kazanırlar. Yenidoğan bir kedi yaşamının ilk bir haftasında doğum ağırlığının %10-15'i kadar süt içebilmektedir. 1-4 haftalık yaşta, bu hacim vücut ağırlığının %20-25'ine çıkmaktadır. Yenidoğan kediler enerjiyi proteinden, yenidoğan köpekler ise yağlardan almaktadırlar. Bu nedenle süt ikame maddesinin bileşenleri kullanımdan önce dikkatle gözden geçirilmelidir (Casal, 2010).

Aşırı besleme ya da yetersiz beslemeye bağlı komplikasyonlarla da karşılaşılabilir. Aşırı besleme veya yüksek laktoz içeriği sonucu genellikle ishal şekillenirken yetersiz beslenmede kilo alamama ve dehidrasyon görülebilmektedir. Ev yapımı formüller genelde büyüme faktörleri, amino asit ve büyüme için gerekli olan diğer maddelerden eksiktir. Ticari süt ikamelerinin birçoğu inek sütü baz alınarak üretilirler ve bu nedenle her zaman yeterli besin kaynağını oluşturmazlar (Casal, 2010).

Birçok süt ikamesi kedi ve köpek yavrularında günlük kalori ihtiyacını karşılayabilmesine rağmen sıvı gereksinimlerini kolayca karşılayamamaktadır. Bu nedenle ikame tozların su ile seyreltilmesi önem taşımaktadır. Yenidoğanlarda hidrasyonun sağlanabilmesi için düzenli ve dengeli olarak beslenmeleri

gerekmektedir. Her yemekten sonra nemlendirilmiş bir pamukla anogenital bölge uyarılarak dışkı ve idrar yapmaları uyarılmalıdır. Defekasyonun olmaması ya da konstipasyon kedilerde malformasyon ya da hipotiroidizm gibi sorunları gösterebilmektedir. Yenidoğanı beslenmeden önce vücut sıcaklığı değerlendirilmelidir. Vücut ısısı çok düşükse, bağırsak motilitesi azalır ve kesilebilir, besleme aspirasyon pnömonisi ile sonuçlanabilmektedir. Vücut ısısı en az 35,6 °C olmalıdır veya bağırsak sesleri ek beslenmeye başlamadan önce değerlendirilmelidir (Casal, 2010).

Yenidoğanların beslenmesi için süt anne bulunabilir, biberon ya da enjektör yardımıyla besleme yapılabilmektedir. Ancak enjektörle besleme aspirasyon pnömonisine yol açabileceğinden önerilmemektedir. Bunun yanında besleme tüpleriyle beslenmeleri kolay kullanışlı bir yöntem olmaktadır (Casal, 2010). Bu amaçla 5, 8 ya da 10 Fr (1,67; 2,67 ya da 3,3 mm) çaplı kauçuk veya plastik besleme tüpleri kullanılmaktadır. Vücut ağırlığı 300 g'dan düşük olanlarda 5 Fr, 300 g'dan büyük olanlarda ise 8-10 Fr çaplı tüpler tercih edilmektedir (Kustritz, 2003).

Yavrular beslenme aralıkları 2-4 saat arasında değişmekle birlikte günlük olarak ilk hafta 12-13 ml/100 g, ikinci hafta 14 ml/100 g, üçüncü hafta 18 ml/100 g miktarlarda besin almalıdır (Casal, 2010).

#### 4. SONUÇ

Neonataların sahip oldukları tüm fizyolojik, biyokimyasal, davranışsal özellikleri yetişkinlerden farklıdır. Neonatal dönemde tüm kedi ve köpek yavruları tamamıyla anneye bağımlıdır ve bu sayede hayatta kalabilmektedirler. Dolayısıyla neonatal dönemde yavrulara müdahale edilmesi gerektiğinde ya da çeşitli nedenlerle onlara bakım besleme yapılması gerektiğinde fiziksel, hematolojik ve biyokimyasal özellikleri bilinmeli ve ona göre uygun şekilde yaklaşılmalıdır. Bu konuda hasta sahipleri ve bakıcıları bilinçlendirilmeli, aksi takdirde neonatların yaşam şanslarının azalacağı anlatılarak durumun önemini anlamaları sağlanmalıdır.

#### 5. KAYNAKLAR

Barber, J. A. (2003). Parturition and dystocia. In: Kustritz, M. V. R., editor. *Small Animal Theriogenology*. 1st Ed., St. Louis, Elsevier Science, 241-281.

Casal, M. (2010). Management and critical care of the neonate. In: England, G., & von Heimendhal, A., editors. *Manual of Canine and Feline Reproduction and Neonatology*, 2nd Ed., Quedgeley, British Small Animal Veterinary Association, 135-154.

Casal, M. (2012). Management of orphan puppies and kittens. In: Lopate, C., editor. *Management of Pregnant and Neonatal Dogs, Cats, and Exotic Pets*, 1st Ed., New Jersey, John Wiley & Sons, Inc, 208-216.

Daniels, L. J. (2018). Dystocia resulting in Caesarean section of the bitch. *The Veterinary Nurse*, 9(3), 158-162.

Gundy, S.A. (2006). Clinically relevant physiology of the neonate. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 36(3), 443-459.

Gültiken, N., & Anadol, E. Yenidoğan kedi ve köpeklerde resusitasyon girişimleri ve köpeklerde apgar skorlama sistemi. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 13(2), 159-169.

Holst, B. S., Axner, E., Öhlund, M., Möller, L., & Egenvall, A. (2017). Dystocia in the cat evaluated using an insurance database. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 19(1), 42-47.

Johnson, C. A., & Casal, M. (2012). Neonatal resuscitation: canine and feline. In: Lopate, C., editor. *Management of Pregnant and Neonatal Dogs, Cats, and Exotic Pets*. 1st Ed., New Jersey, John Wiley & Sons, Inc., 77- 92.

Johnston, S. D. (2001). Canine parturition-eutocia and dystocia. In: Johnston, S. D, Kustritz, M. V. R., & Olson, P. N. S., editors. *Canine and Feline Theriogenology*. 1st Ed., Philadelphia, Pennsylvania, Saunders, 105-128.

Kustritz, M. V. R. (2003). Neonatology. In: Kustritz M.V. R. editor. *Small Animal Theriogenology*. 1st Ed., St. Louis, Elsevier Science, 283-329.

- Moon, P. F., Massat, B. J., & Pascoe, P. J. (2001). Neonatal critical care. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 31(2), 343-367.
- O'Neill, D. G., O'Sullivan, A. M., Manson, E. A., Church, D. B., Boag, A. K., McGreevy, P. D., & Broadbent, D.C. Canine dystocia in 50 UK first-opinion emergency-care veterinary practices: prevalence and risk factors. *Veterinary Record*, 181(4), 1-6.
- Rickard, V. (2011). Birth and the first 24 hours. In: Peterson, M. E., & Kutzler, M. A., editors. *Small Animal Pediatrics: The First 12 Months of Life*, 1st Ed., St. Louis, Saunders, 11-19.
- Runcan, E. E., & Coutinho da Silva, M. A. (2018). Whelping and dystocia: maximizing success of medical management. *Topics in Companion Animal Medicine*, 33, 12-16.
- Silva, L. C. G., Lucio, C. F., Veiga, G. A. L., Rodrigues, J. A., & Vannucchi, C. I. (2009). Neonatal clinical evaluation, blood gas and radiographic assessment after normal birth, vaginal dystocia or caesarean section in dogs. *Reproduction in Domestic Animals*, 44(2), 160-163.
- Sturgess, K. (2004). Infectious diseases of young puppies and kittens. In: Simpson, G. M., England, G. C. W., & Harvey, M., editors. *Manual of Small Animal Reproduction and Neonatology*, 2nd Ed., Quedgeley, British Small Animal Veterinary Association, 159-166.
- Traas, A.M. (2008). Resuscitation of canine and feline neonates. *Theriogenology*, 70(3), 343-348.
- Titkova, R., Fialkovicova, M., Karasova, M., & Hajurka, J. (2017). Puppy apgar scores after vaginal delivery and caesarean section. *Veterinarni Medicana*, 62(9), 488-492.
- Vassalo, F. G., Simões, C. R., Sudano, M. J., Prestes, N. C., Lopes, M. D., Chiacchio, S. B., & Lourenço M. L. (2015). Topics in the routine assessment of newborn puppy viability. *Topics in Companion Animal Medicine*, 30, 16-21.
- Veronesi, M.C, Panzani, S., Faustini, M., & Rota, A. (2009). An Apgar scoring system for routine assessment of newborn puppy viability and short-term survival prognosis. *Theriogenology*, 72, 401-407.
- Wilborn, R. R. (2018). Small animal neonatal health. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 48(4), 683-699.

TEK SAĞLIK YAKLAŞIMINDA GIDA KAYNAKLI BAKTERİYEL ZOOZOZLAR  
FOODBORNE BACTERIAL ZOOZOSES IN ONE HEALTH APPROACH

**Onur TAŞ**

*Doktora öğrencisi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Veterinerlik Mikrobiyolojisi,  
Samsun, Türkiye*

ORCID ID: 0000-0003-0577-4024

**ABSTRACT**

Food-borne bacterial zoonoses are common in many parts of the world. *Salmonella*, *Campylobacter*, *Listeria*, EHEC, *Yersinia*, *Enterococcus* and *Shigella* are the most common of these pathogens. These pathogens have identified as foodborne for the past 20 or 30 years, although they have known for many years. In the epidemiology of the infections caused by these pathogens; changes in pathogens, economic and technological developments, pollution, changing eating habits, changes in demographic structure, travel, food, animal food and pet trade plays a significant role. The key to controlling and preventing foodborne bacterial zoonoses is the ‘One-Health’ approach that requires the joint efforts of human and veterinary medicine, city planners and environmental health workers.

**Key words:** Foodborne; one health; pathogen; zoonosis

**ÖZET**

Dünyanın birçok yerinde gıda kaynaklı bakteriyel zoonozlar yaygın olarak görülmektedir. Bu patojenlerden en çok görülenleri ve önem arz edenleri; *Salmonella*, *Campylobacter*, *Listeria*, Enterohemorajik *E. coli* (EHEC), *Yersinia*, *Enterococcus* ve *Shigella*’dır. Bu patojenler uzun yıllardır bilinmesine rağmen son 20 veya 30 yıldır gıda kaynaklı olarak tanımlanmıştır. Bu patojenlerin neden olduğu enfeksiyonların epidemiyolojisinde; patojenlerdeki değişimler, ekonomik ve teknolojik gelişmeler, kirlilik, değişen beslenme alışkanlıkları, demografik yapıdaki değişimler, seyahat, gıda, hayvansal gıda ve hayvan ticaretindeki artışlar önemli rol oynamaktadır. Gıda kaynaklı bakteriyel zoonozların kontrolü ve önlenmesindeki kilit nokta insan hekimleri, veteriner hekimleri, şehir planlamacıları ve çevre sağlığı çalışanlarının ortak çabalarını gerektiren “Tek Sağlık” yaklaşımıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Gıda kaynaklı; patojen; tek sağlık; zoonoz

**GİRİŞ**

Gıda kaynaklı zoonozlar, besin zincirinde önemli kirleticilerdir ve çevreden, vahşi yaşamdan, evcil hayvanlardan ve en sonunda gıda üretimi de dâhil olmak üzere insanla ilgili faaliyetlerden kazanılabilir. Araştırmalar artık gıda üretim sistemlerini tek başına inceleyemeyeceğimizi, aksine evsel, yerleşik ve yaban ortamları arasında sürekli etkileşimler olduğunu ve hepsinin zoonotik hastalık rezervuarları sağlayabildiğini göstermektedir. Gıdalar mikrobiyolojik olarak steril olmadığı gibi tüm mikroorganizmalar da patojenik değildir. Gıda kaynaklı patojenik zoonotik ajanlarla ilişkili doğal sorunlara ek olarak, antropojenik olarak kontrol edilen antimikrobiyal direnç (AMD) komplikasyonları da söz konusudur. AMD de, çevre, vahşi yaşam, evcil hayvanlar ve nihayet gıda üretimi de dâhil olmak üzere insanla ilgili faaliyetlerden elde edilebilir.

Halk sağlığını korumak amacıyla bütünleşik izleme (monitoring) ve gözetim (sürveyans) sistemlerini devreye sokmak için gıda zincirinde yeni patojenlerin ve zoonotik salgınların ortaya çıkmasının itici güçlerini belirlemek üzere “Tek Sağlık” yaklaşımı gerekmektedir. Bu makalede, dünya genelinde önemli sağlık tehditlerinden biri olan gıda kaynaklı bakteriyel zoonozların kontrolü ve önlenmesinde

“Tek Sağlık” yaklaşımı, özellikle zoonozun epidemiyolojisi, antibiyotik direnç sorunu ve koruma kontrol yöntemleri temel alınarak irdelenmiştir.

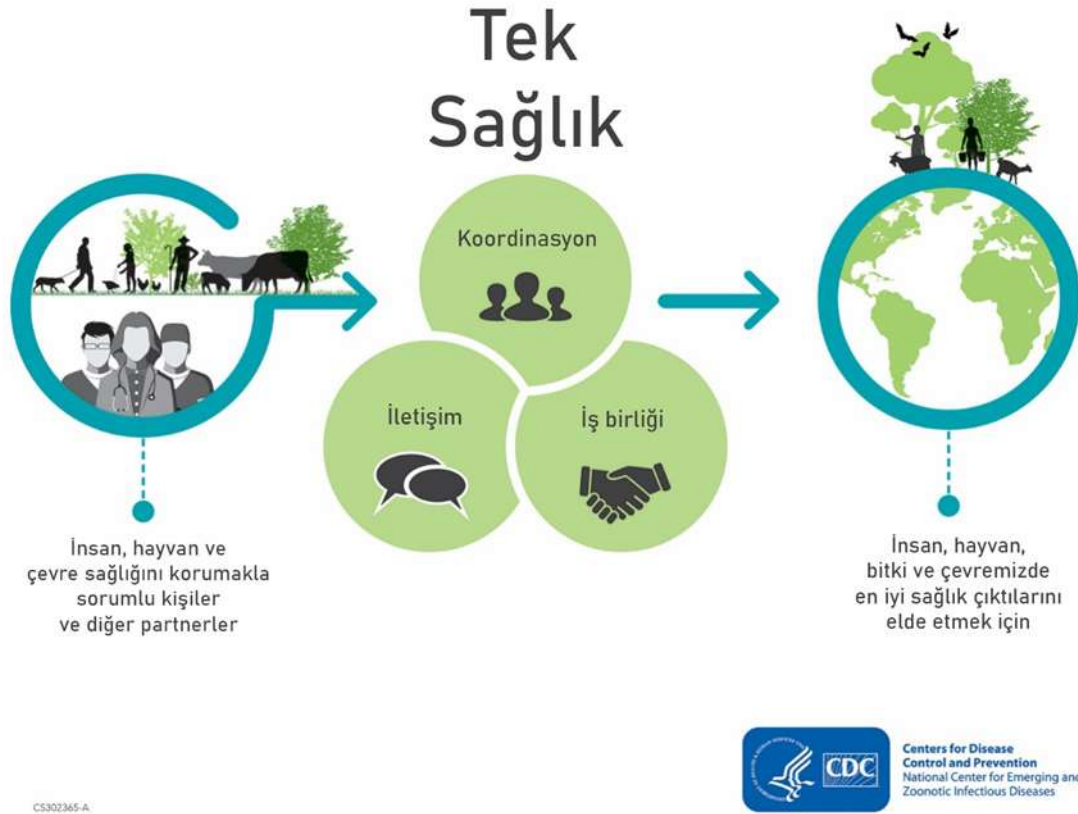
## 2. GENEL BİLGİLER

Hayvanlardan insanlara vektörlerle (pire, kene, sivrisinek veya bitler) ya da vektör olmadan (hayvanlarla direkt temas, kontamine gıdalar, yetersiz ısı işlem uygulanmış gıda tüketimi vs.) bulaşabilen hastalıklara zoonoz hastalıklar denir. İnsanlarda ortaya çıkan bulaşıcı hastalıkların %75’inin zoonotik olduğu tahmin edilmektedir (Taylor ve ark., 2001).

Zoonotik hastalıklar; viral, bakteriyel, paraziter ve fungal olmak üzere 4 ana grupta incelenmektedir. Zoonotik bakteriyel enfeksiyonlar hayvanlardan insanlara çok yaygın bir biçimde bulaşabilmektedir. Bunun ana sebepleri arasında küresel iklim değişiklikleri, aşırı ve gereksiz yere kullanılan antibiyotikler (özellikle veteriner hekimlikte), hayvanlarla daha yakın etkileşimler yer alırken bir diğer önemli bulaşma mekanizması ise gıda üretim zinciridir. Hayvansal gıda ile insanlara bulaşan bakteriyel enfeksiyonlar gıda kaynaklı bakteriyel zoonozlar olarak adlandırılırlar. Dünya genelinde *Salmonella* ve *Campylobacter* türleri gıda zehirlenmesi vakalarının %90’ından sorumlu tutulmaktadır. Bu bakterilerin bulaşmasındaki ana kaynak genellikle çiğ veya iyi pişirilmemiş kanatlı etidir.

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) yılda 2,2 milyon insanın ölümünden sorumlu olarak gıda ve su kaynaklı bulaşıcı hastalıkları göstermektedir. İngiltere ekonomisinde, gıda kaynaklı hastalıkların 2 milyar sterline mal olduğu hesap edilirken 1 milyon insanın gıda kaynaklı bir hastalığa yakalandığı, 20 bin insanın hastanelerde tedavi görmeye ihtiyaç duyduğu ve 500’den fazla insanın öldüğü bilinmektedir. Görüldüğü üzere gıda kaynaklı bakteriyel hastalıklar hem insan sağlığını ciddi bir şekilde tehdit etmekte hemde ekonomiyi kötü etkilemektedir. İnsan, hayvan ve çevre arasındaki etkileşimler düşünüldüğünde gıda kaynaklı bakteriyel hastalıkların kontrol altına alınabilmesi için birçok disiplini içinde barındıran “tek sağlık” yaklaşımı benimsenmelidir. Tek sağlık yaklaşımının avantajı farklı disiplinlerin bilgilerini bir araya getirerek ve ortak paydada birleştirerek sorunlara çok yönlü bakılabilmesini sağlamaktır. Çünkü insan sağlığı, hayvan sağlığı ve çevre birbirinden ayrı düşünülemez. Örneğin; insan Salmonellozisindeki artışlar, insanlarda *Salmonella Enteritidis* faj tip 4’ün kontamine sığır eti ve çevre aracılığıyla bulaşmasından kaynaklanmaktadır. Ortaya çıkan bulaşıcı ajanların riskini en aza indiren sürdürülebilir tarımsal gıda sistemlerinin geliştirilmesi insan sağlığı, hayvan sağlığı ve çevreyi korurken küresel gıda arzının artan taleplerini de karşılayabilmelidir ki ancak bu şekilde insanlar güvenli gıdaya ulaşabilirler.

Tek Sağlık yeni bir kavram değildir, son yıllarda daha önemli hale gelmiştir. Bunun nedeni birçok faktörün insanlar, hayvanlar ve çevremiz arasındaki etkileşimi değiştirmesidir. Bu değişiklikler birçok hastalığın ortaya çıkmasına ve/veya yeniden ortaya çıkmasına neden olmuştur (CDC, 2019).



Şekil 1. Sağlığa çok-boyutlu yaklaşım (CDC)

Halk sağlığı açısından önem taşıyan endemik hastalıkların ve ortaya çıkan zoonotik hastalıkların etkisinin etkin şekilde azaltılması, çok sektörlü işbirliği ve disiplinlerarası ortaklıklar gerektirmekte olup CDC, Tek Sağlık Zoonotik Hastalık Önceliklendirme Çalıştayı düzenlemiştir. Bu çalıştayın temel amaçları;

- İnsan, hayvan ve çevre sağlığı sektörlerini birbirine bağlamak için çok sektörlü, Tek Sağlık temsilcilerini bir araya getirmek
- Temsil edilen tüm sektörlerden eşit girdi kullanarak en büyük ulusal kaygı ile endemik ve ortaya çıkmakta olan zoonozları önceliklendirmek
- İnsanlar ve hayvanlar için sağlık çıktılarını iyileştirmek için Tek Sağlık koordinasyon mekanizmalarının oluşturulmasını desteklemek
- Kapasite oluşturmak ve öncelikli zoonozların etkisini azaltmak için sınırlı kaynak kullanımına odaklanmak (CDC, 2019)

Tek sağlık yaklaşımı, insanların, hayvanların ve çevrenin sağlığını içeren bilimsel kaynakların izlenmesi yoluyla oldukça araştırılmış bir kavram olmaya devam etmektedir. Zoonozlarla daha etkin mücadele için, gıda güvenliği ve tarımla ilgili araştırmaların artırılmasına ve tek sağlık kavramının anlaşılmasını geliştirmeye ihtiyaç vardır. Bu da internetin daha da geliştirilmesi ve tek sağlık hakkında çevrimiçi bilgilerin ücretsiz olarak sunulması suretiyle gelişmekte olan ülkelere daha bilimsel kaynaklar sunarak sağlanabilir. Gelişmekte olan ülkelere sunulan Masif Açık Çevrimiçi Kursların (MOOC) kullanımı, tek sağlık yaklaşımı ve uygulamalarına yönelik kurslar sunmak için önerilmektedir (Canvas, 2013). Bu kritik öneme sahiptir çünkü tek sağlık kavramı içerisinde ortaya çıkan halk sağlığı ve ekonomik etkilerinin çoğu gelişmekte olan ülkelerde ortaya çıkmaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde temel sağlık altyapısının olmayışı, sonuç olarak çevre, insan ve hayvan sağlığı ve refahı gibi her şeyin olumsuz etkilenmesi demektir. Tek sağlığın geleceği bir dönüm noktasındadır ve sınırlarını daha net bir şekilde tanımlamak ve faydalarını göstermeye ihtiyaç vardır. Tek sağlığın kabulünün en önemli gerekçesi bulaşıcı hastalıkların kontrolü üzerinde önemli etkileri olmasıdır. (Bidaisee ve Calum, 2014).

### 3. YAYGIN OLARAK GÖRÜLEN GIDA KAYNAKLI ZOONOZLAR

#### 3.1. *Campylobacter* spp.

*Campylobacter* spp. Gram negatif spiral, kıvrımlı veya "S" şeklinde bir bakteri olup 20 adet türü bulunmaktadır (On ve Miller, 2017). Özellikle *C. jejuni* ve *C. coli* türleri insanlarda akut gastroenteritise yol açar. Bu etkenler kanatlıların kommensal flora etkeni olup insanlara çoğunlukla kanatlıların çığ ve iyi pişmemiş etlerinin tüketimi ile bulaşır (Lee ve Newell, 2006). *C. jejuni* ve *C. coli* bir konak dışında gelişemez fakat gen yapılarındaki esneklikten dolayı hızlı ve etkili olarak anti mikrobiyal, sıcaklık, kuruluk, bakteriyofaj gibi çevresel strese cevap verir ve adapte olur (Newell ve ark., 2016). *Campylobacter* spp. tavukların yaşamlarının ilk iki haftasında gastrointestinal sistemlerinde özellikle sekunda kolonize olur (Bolton, 2015). Tavuklardan insanlara bulaşan *Campylobacter* spp. tavuklarda genellikle asemptomatik seyreden enfeksiyona neden olurken insanlarda; sulu ishal dizanteri, sepsis gibi semptomlara ve daha ciddi bir hastalık olan ve ciddi sekeller bırakabilen ve hatta ölüme yol açabilen Guillan Barre hastalığına yol açabilir (Allos, 2001; Requena ve Requena, 2002, CFSPH, 2005).

#### Epidemiyoloji

*Campylobacter* spp.'nin sebep olduğu Kampilobakteriyozis, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerdeki gıda kaynaklı enfeksiyonlar arasında en sık görülenidir. ECDC'nin 2011'de yayınladığı rapora göre 2006 yılında 178.000, 2009 yılında 202.000 Kampilobakteriyozis vakası görülmüştür. Bu vakalardan en çok izole edilen *Campylobacter* türleri ise; *C. jejuni* ve *C. coli*'dir (Office fédéral de la Santé Publique, 2010). Amerika gıda kaynaklı hastalıklar aktif sörveyans ağından (FoodNet) edinilen bilgiye göre her yıl 100.000 insanda 14 vaka tespit edilmiştir. Amerika'da 2018 yılındaki *Campylobacter* spp. insidansı %19.5'tir. 2015 ve 2017 yılları arasındaki insidans ile karşılaştırıldığında %2'lik bir artış söz konusudur (Tack ve ark., 2019). 2010 yılındaki küresel hastalık araştırmalarına göre Kampilobakteriyozis dünya genelinde 7.5 milyondan fazla insanı etkilerken Şigellosis 7.1 milyon, *E. coli* ise 6.5 milyon insanı etkilemektedir (Murray ve ark., 2012). Bu istatistiklere göre Kampilobakteriyozis tüm dünyada yaygın bir biçimde görülmektedir. Bu bakterinin insana bulaşmasındaki ana sebep çığ veya iyi pişirilmemiş kanatlı eti olsa da bir diğer önemli bulaşma mekanizması evde bakılan kedi ve köpeklerin çığ etle beslenmesidir. Kampilobakteriyozis'e bağlı ölümlerin oranı genellikle düşüktür (Center for Food Security and Public Health (CFSPH), 2005). Örneğin Hollanda'da 2008 yılında 3340 hastadan 45 tanesi ölmüştür (World Organisation for Animal Health – Office, 2013). Kampilobakteriyozis'in yaygınlığının artması sebebiyle Avrupa Komisyonu kanatlı sektörünü hastalığın prevalansı ve antibiyotik dirençliliğini ortaya çıkarabilmek için desteklemiştir (European Union, 2007) Commission Decision 2007/516/EC of 19 July 2007). Avrupa komisyonunun desteklediği bu çalışmalar sonucunda kanatlı karkaslarında *Campylobacter* kontaminasyonunun çok yüksek olduğu saptanmıştır. Özellikle de *C. jejuni*'nin oranının %23 ile %89.8 arasında değişmekte olduğu ve en sık izole edilen *Campylobacter* türü olduğu ortaya konmuştur (Keller ve ark., 2011). Kanatlı hayvan sürüleri, prevalansları %30-100 arasında değişen (yüksek) oranlarda *Campylobacter* spp. ile kolonize edilmektedir. Bir AB sörveyinde, piliç gruplarında %71.2'lik bir prevalans (sekal içerikte prevalans,% 2 ila % 100 arasında değişmekte) ve piliç karkaslarında %75.8'lik bir prevalans (%10-100 karkas prevalansı) tespit edilmiştir (EFSA, 2010).

Kanatlılar Kampilobakteriyozis'in bulaşmasında belirgin bir rol oynamakla beraber, son zamanlarda yapılan moleküler epidemiyolojik çalışmalar, ruminantların da kontamine süt, su ve ürünler yoluyla insanlarda hem sporadik vakalara hem de salgınlara katkıda bulunduğunu göstermektedir (Clark ve ark., 2003; Hunt, 2007).

Köpekler ve kediler veya diğer evcil hayvanlar da evdeki olası insan enfeksiyonu kaynakları olarak düşünülmelidir (Wieland ve ark., 2006). Çoğu durumda, köpekler ve kediler, yaklaşık %40'a kadar değişen prevalansları ile asemptomatik olarak termofilik *Campylobacter* spp. taşıyabilirler. Genellikle, *C. upsaliensis* ve *C. helveticus* bu hayvanlarda baskın türlerdir, ancak *C. jejuni* de rutin olarak teşhis edilir. Özellikle, *Campylobacter* saçan (dışkı ile) genç kedi ve köpeklerle yakın temas nedeniyle *Campylobacter* insanlara bulaşabilir (Gölz ve ark., 2014).

Epidemiyolojileri bakımından *C. coli* ve *C. jejuni* önemli ölçüde farklıdır. Çeşitli gıdalardaki *C. jejuni* ve *C. coli* prevalansları ve farklı sörvey ve modellerden elde edilen veriler, insan *C. coli* enfeksiyonlarına yönelik risk faktörlerinin *C. jejuni* enfeksiyonları için olandan farklı olabileceğini göstermektedir

Kampilobakteriyozis vakalarını azaltmak için stratejiler geliştirirken bu varsayımın dikkate alınması gerekir (Roux ve ark., 2013).

### Antimikrobiyal Direnç

2017 yılında Dünya Sağlık Örgütü (WHO) florokinolona dirençli *Campylobacter* spp.'nin insan mikrobiyal patojenleri içinde en önemli 4. patojen olduğunu ortaya koymuştur. İnsan Kampilobakteriyozisine karşı tedavideki ilk seçenek olan florokinolona karşı direnç gelişimi makrolidlere karşı gelişen direnç seviyelerine neredeyse ulaşmıştır (Sproston ve ark., 2018). Makrolidlere karşı direnç gelişimi kesin olduğundan *Campylobacter* enfeksiyonu tedavilerinde amoksisilin/klavulanik asit kombinasyonu kullanımı gündeme gelmiştir; fakat ishali arttırdığından dolayı bundan vazgeçilmiştir. İlaça karşı direnç gelişiminin en önemli sebebi çiftlik hayvanlarında profilaktik, tedavi ve gelişimi teşvik etme amacıyla aşırı antibiyotik kullanımınıdır. İnsan Kampilobakteriyozisindeki makrolid direncinin en düşük olduğu ülkeler; Güney Kore (%0.8) ve Birleşik Krallık (%2.2) dir. En yüksek olduğu ülkeler ise; Tayland (%12.5), Çin (21.8) ve Peru (%25.5) dur (Schiaffino ve ark., 2019, Pham ve ark., 2016, Pan ve ark., 2016, Stockdale ve ark., 2016, Shin ve ark., 2013, Ghosh ve ark., 2013). Kinolon direncinde dünya genelinde ciddi bir artış olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur.

### Koruma ve Kontrol Önlemleri

Kampilobakteriyozis'ten korunma önlemlerinin en başında genel hijyen kurallarının doğru bir şekilde uygulanması gelmektedir. Gıda güvenliğindeki korunma önlemlerinin gıda üretim zincirinin bütün aşamalarını kapsaması gerekmektedir. Özellikle gıda üretim zincirinden gıdanın tüketimine kadar olan süreçte hem gıdayı hazırlayan hemde tüketen insanların çapraz kontaminasyondan kaçınmaları primer korunma mekanizmasını oluşturur. Bununla beraber kanatlılardaki *Campylobacter* yükünün azaltılmasında oldukça önemlidir. Bunun için ilk olarak kanatlı hayvan çiftliklerinde biyogüvenlik önlemleri alınarak çevreden etken girişinin engellenmesi gerekmektedir. Ayrıca çiftliklerden de çevreye *Campylobacter* yayılımını engellemek için kanatlı dışıklarının çevreye atılmadan sağlam ve güvenli bir kanalizasyon sistemi ile uzaklaştırılması gerekmektedir. Kanatlı kesimhanelerinde karkasların dışkı ile kontamine olmamasına çok dikkat edilse bile üretilen kanatlı etinin *Campylobacter* taşımadığı garanti değildir. Bu sebeple bu ürünler tüketilmeden önce çok iyi pişirilmelidir. Çünkü yüksek ısıda pişirilen kanatlı etinden bulaşma oranı oldukça düşüktür. Ayrıca patojenin kanatlı etindeki miktarını azaltmaya yönelik fiziksel yöntemlerde bulunmaktadır. Bu yöntemler; sıcak uygulama, su ile soğutma, basınç veya klorat çözeltileri gibi kimyasal solüsyon muameleleridir. Bu yöntemler kanatlı karkasına uygulandıktan sonra büyük bir oranda başarı sağlanabilir (Boysen ve Rosenquist., 2009; Misawa ve ark., 2011). Kontrol önlemi olarak, insan ve kanatlı hayvan işleme sürecindeki sıkı gıda güvenliği önlemlerini kapsayan sağlam ve entegre bir sürveyans sistemi oluşturulmuştur (Schiaffino ve ark., 2019).

Disiplinlerarası "Tek Sağlık" yaklaşımı ve tüm paydaşların bütüncül bir çaba göstermesi, insanlarda Kampilobakteriyozis vakalarının yükünü azaltmak için gereklidir. Bununla birlikte, çok sayıda çalışma, şu anda gıda zincirinde *Campylobacter*'in tamamen ortadan kaldırılmasının uygulanabilir olmadığını göstermektedir. Bu nedenle mevcut amaç, çiftlik hayvanlarında (örn. kümes hayvanı sürülerinde) *Campylobacter* spp. varlığını en aza indirmek için kontrol önlemleri ve müdahale stratejileri oluşturmak ve hayvanlarda ve gıdalarda kantitatif kampilobakter yükünü azaltmak olmalıdır. Bu amaçla, gıda zincirinin farklı aşamalarında müdahale yöntemlerini kombine etmek en umut verici yol olarak görünmektedir. Bu, Kampilobakteriyozis konusunda farkındalığı arttırmak için hedeflenen tüketici tavsiyesi ve eğitim kampanyaları ile birlikte yapılmalıdır (Gözl ve ark., 2014). Halk sağlığı otoriteleri, hedeflenen tüketiciye tavsiyede bulunmalı ve *Campylobacter* enfeksiyonuna karşı farkındalığı arttırmak ve *Campylobacter* epidemiyolojisinde farklı kaynakların (örneğin, yiyecek, çevre) önemini göstermek için eğitim kampanyaları oluşturmalıdır.

### Aşılama

Halihazırda insanlardaki Kampilobakteriyozis için onaylanmış yada lisans alınmış bir aşı yoktur (Riddle ve Guerry, 2016). Hayvanlarda ise, tavukların *C. jejuni* ve *C. coli*'nin ana rezervuarı olduğu gözönüne alındığında ve insan hastalıklarının büyük bir kısmının kaynağı olması sebebiyle, bu hayvanlarda en önemli korunma mekanizması aşılama değildir. Kanatlılarda *Campylobacter* için; tüm hücre aşıları, subünit aşılar ve canlı vektörel aşılar geliştirilmiştir. Birçok aşı uygulaması sonrasında kanatlılarda



*Campylobacter* yükünün azaldığı gösterilmiştir. Ancak, daha fazla doğrulama çalışmalarına ihtiyaç vardır (Kobierecka ve ark., 2016).

### 3.2. *Salmonella* spp.

*Salmonella*, Enterobacteriaceae ailesinde yer alan Gram negatif, çomak şekilli bir bakteri olup yaklaşık 2600 serovarı bulunmaktadır (Claudia ve ark., 2015). *Salmonella* türlerinin çoğunun konak yelpazesi geniştir; memeliler, kuşlar, sürüngenler, balıklar ve böceklerin dahil olduğu çok çeşitli hayvan gruplarında görülebilir (Bäumler ve ark., 1998). Aynı zamanda *Salmonella* bitkilerde, protozoalarda ve suda yaşamını sürdürebilir. Bu yüzden yabani hayvanlar, çiftlik hayvanları ve pet hayvanlarının dışkıyla ya da kanatlı eti, sığır eti, süt, yumurta ve baharat gibi besinlerle de bulaşabilir. *Salmonella* türlerinden *S. typhi*, *S. paratyphi A*, *S. paratyphi C* ve *S. sendai* yalnızca insanlarda hastalığa yol açarken *S. typhimurium* ve *S. enteritidis* hem insanlarda hem de hayvanlarda hastalığa yol açar (Claudia ve ark., 2015). *Salmonella*'ların patojenitesi serotipe, konağın immunitesine ve virulansına bağlıdır. Salmonellaların virulans faktörleri; fimbria, adezin proteinleri, tip 3 sekresyon sistemi, LPS, endotoksin ve ekzotoksinler sayılabilir. *Salmonella* cinsine ait patojenik bakteriler insanlarda üç tip salmonellozise neden olur; noninvaziv, invaziv ve tifoid. Nontyphoid salmonellozise sebep olan *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *S. newport* ve *S. heidelberg* gıda kaynaklı enfeksiyonlardan sorumludur (Kurtz ve ark., 2017). Salmonellozisin tipik klinik belirtileri; kusma, bulantı, ateş ve diyaredir. *Salmonella* spp. aynı zamanda, hem et hem de süt için yetiştirilmiş sığırlarda fazlaca bulunmaktadır (Oueslati ve ark., 2016). Sürünün neredeyse %40'ı enfekte olabilir ve enfeksiyon riski, sürünün büyüklüğü ile artar (Hoelzer ve ark., 2011). Sığır eti genellikle kesim aşamasında kontamine olur ve dış kaynaklar (hayvanlar, su, yem, kemirgenler, kuşlar ve çiftlik personeli) sebebiyle üretim ortamına patojenik *Salmonella* bakterileri katılır (Cummings ve ark., 2009). Sığırlar patojenik bakterilerin asemptomatik taşıyıcıları olabilir (bakteriler birkaç ay ile bir yıl arasında değişen süre boyunca gastrointestinal kanallarında kalabilir), ancak 7 güne kadar süren ateş, diyare de dahil olmak üzere anoreksi, dehidrasyon, süt üretiminin azalması, abort gibi semptomlar veya kanda toksinlerin varlığı gözlenir (Cummings ve ark., 2009; Hoelzer ve ark., 2011).

### Epidemioloji

*Salmonella* spp. dünyada yaklaşık 90 milyon diyare ile ilişkili hastalıkların nedeni olup, bu vakaların %85'i gıdaya bağlıdır (Hung ve ark., 2017). Literatürde ayrıca dünyada 200 milyon ile 1 milyar arasında değişen Salmonelloz vaka sayısı bildirilmiştir (Bierschenk ve ark., 2016). *Salmonella* ile ilişkili dünya genelinde beklenen ölüm sayısı 150 binin üzerindedir. Çoklu ilaç dirençli (MDR) *Salmonella*'ların artan prevalansı ölümlü vaka sayısını da arttıracaktır. Ölümler en sık *S. enteritidis* ve *S. typhimurium* ile enfekte 4 yaş altı çocuklarda görülmüştür. AB'de teyit edilen vaka sayısı 2005 yılında 176.395, 2008 yılında 131.648, 2012 yılında 94.625, 2015 yılında 94.530'dur (EFSA, 2006; EFSA, 2016). Amerika Birleşik Devletlerinde yılda 1 milyondan fazla Salmonellozis vakası olduğu tahmin edilmektedir. Neredeyse 20.000'i hastanede yatmayı gerektirir ve enfeksiyondan kaynaklanan yaklaşık 400 ölüm söz konusudur (Anderson ve ark., 2016).

*Salmonella* enfeksiyonu hayvanlardan veya çevreden doğrudan veya dolaylı temas sonucu bulaşabilir. Aynı zamandan kontamine olmuş bir ortamdan veya bu ortamda hazırlanmış yiyeceklerin tüketimi sonucunda gıda kaynaklı enfeksiyona yol açabilir (Anderson ve ark., 2016). Patojenler, insana su veya fekal mikrobiyotaya ile enfekte olmuş yiyeceklerle bulaşmaktadır (Kurtz ve ark., 2017). Bu nedenle çevre *Salmonella* spp.'nin yayılmasında önemli bir rezervuar görevi görür. Kanatlıların özellikle hindi ve tavukların bağırsakları *Salmonella* spp. için primer üretim merkezini oluşturur. Bir kanatlı sürüsünün yaklaşık %65'i *Salmonella* taşıyabilir (Antunes ve ark., 2015; Dunkley ve ark., 2008). Ayrıca hayvan dışkısı ile kirlenmiş sebzeler *Salmonella* spp. için bir kaynak olabilir (Kore ve ark., 2017). Yatay geçiş yolu kirli su ve yem ile birlikte altlık, toprak, hava ve çiftlik personeli içerir. (Nidaullah ve ark., 2017). Dikey geçiş yolu enfeksiyonun tavuktan yumurta ile civcive bulaşmasını içerir (Nidaullah ve ark., 2017). WHO tarafından desteklenen bir gıda kaynaklı hastalığı izleme ağı *Salmonella* Surveyinin 2001-2005 verilerine göre NTS (Nontifoid *Salmonella*) enfeksiyonlarından sorumlu en yaygın izole edilen serotip *S. Enteritidis*'tir (%65). Bunu sırasıyla %12 ile *S. Typhimurium* ve %4 ile *S. Newport* izlemektedir (Galanis ve ark., 2006). Hijyen ve sanitasyondaki gelişmelere rağmen, NTS enfeksiyonlarının görülme sıklığı artmaya devam ederek hem sanayileşmiş hem de az gelişmiş ülkelerde bir yük oluşturmaktadır

(Majowicz ve ark., 2010). NTS ile ilişkili hastalık insidansının, Avrupa'da 100.000 nüfus başına 690 vaka, İsrail'de NTS'nin insidansının ise 100.000 nüfus başına 100 vaka civarında olduğu tahmin edilmektedir. (Wienberger ve Keller, 2005). ABD'de Gıda Kaynaklı Hastalıklar Aktif Gözetim Ağı (FoodNet) tarafından sağlanan verilere göre enfeksiyonları yılda 100.000 nüfus başına 17,6 vaka insidansına sahiptir. Gıda kaynaklı tüm patojenler arasında %39 ölüm oranına sahiptir (Barton ve ark., 2011 Sağlık Bakanlığında alınan verilere göre Türkiye'de 2012-2016 yılları arasında en sık izole edilen Salmonella serotipi *Salmonella Enteritidis*'tir (%57,3-74,1). Bu serotipi yıllara göre değişiklik göstermekle birlikte *S.typhimurium* (%3.0-8.5), *S. infantis* (%4.0-6.7), *S. paratyphi B* (%3.8-3.2) ve *S.kentucky* (%3.8-2.7) izlemiştir. Bu veriler, insanlarda klinik vakalardan alınan materyallerden sağlanmıştır. Kanatlı hayvan ürünlerinde *Salmonella* prevalansına dair yapılan çalışmalarda %3-100 arasında değişen büyük farklılıklar görülmektedir (Dookeran ve ark., 2012; Goncagül ve ark., 2005). Bu büyük farklılığın nedenleri; örnekleme planlarının, örnek sayılarının, analiz metotlarının farklı olmasıdır. Türkiye'de 315 piliç eti numunesi ile yapılan bir çalışmada *Salmonella* prevalansı %18.09 olarak bildirilmiştir (Goncagül ve ark., 2005). Dookeran ve ark. (2012) broylerlerde yaptığı çalışmada; 64 kümes incelemişler ve bu kümeslerin %50'sinin *Salmonella* pozitif olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar kümeslerdeki prevalansın %6-11 arasında değiştiğini, kesimhanede bu oranın %36-62'ye, perakende satış yerlerinde ise %74-82'ye yükseldiğini bildirmişlerdir.

### Antimikrobiyal Direnç

*Salmonella* türlerinde antimikrobiyal direnç ortaya çıkması dünya çapında ciddi bir sağlık sorunudur (Chiu ve ark., 2002). 1960'lı yılların başında ilk kez, tek bir antibiyotiğe yani kloramfenikole karşı *Salmonella* direnci bildirilmiştir (Montville ve Mathews, 2008). O zamandan beri ABD, İngiltere ve Suudi Arabistan'da dahil olmak üzere birçok ülkede bir veya daha fazla antimikrobiyal maddeye karşı dirençli *Salmonella* suşlarının izolasyon sıklığı artmıştır (Yoke-Kqueen ve ark., 2008). Ampisilin, kloramfenikol ve trimetoprim-sülfametaksazol gibi anti mikrobiyal ajanlar, *Salmonella*'nın geleneksel birinci basamak tedavisinde kullanılmaktadır. Bu antibiyotiklere karşı dirençli *Salmonella* spp. enfeksiyonları çoklu ilaç dirençli (MDR) enfeksiyonlar olarak adlandırılır. Birçok ülkede, MDR *S. typhimurium* DT 104 suşlarının 1990 yılında ortaya çıkmasından bu yana MDR fenotipi gelişen suşların sayısı artmıştır (Helms ve ark., 2005). 1990'ların ortalarında, araştırmalar, gıda hayvanlarında florokinolona dirençli *Salmonella* ve *Campylobacter*'in insanlara yayıldığını göstermiştir (Wegener, 2012).

Çoklu ilaç direncine sahip *Salmonella* önemli bir sorundur. "NARMS 2012 İnsan İzolatları Nihai Raporunda ki NTS'nin %4'ü en azından ampisilin, kloramfenikol, streptomisin, sülfonamid ve tetrasikline dirençlidir (CDC 2014). MDR *S. typhimurium* vakaları, artmış invaziv enfeksiyon riski, artmış hastanede yatış sıklığı ve süresi ve yüksek ölüm riski ile ilişkilidir. Bu direnç yatay olarak diğer serotiplere yayılabilir (WHO, 2014). 2014 yılında, altı Avrupa Birliği üyesi ülkede yeni bir MLVA (Multilocus Variable Number Tandem Repeat) profiline sahip MDR *S. typhimurium* identifiye edilmiş ve etlerin bulaşma aracı olduğundan şüphelenilmiştir (ECDC-EFSA, 2014).

### Koruma ve Kontrol Önlemleri

*Salmonella* ile mücadelede tek bir işlem basamağı yoktur. Üretim zincirinin her aşamasında medikal ve hijyenik önlemlerin uygulanması bakteriyel yükü tamamen ortadan kaldırmaya bile tolere edilebilir düzeylerde tutulmasını sağlayabilir. Tavukçuluk işletmelerinin kuluçkahane bölümlerinin *Salmonella* ile mücadele yönünden iyi yönetilmesi büyük önem arz etmektedir. Özellikle civcivlerin hastalığa karşı maternal antikoru alabilmeleri için damızlıkların aşılama çok kritiktir. Bunun sonucunda enfeksiyonun dikey geçişi önemli oranda kontrol altına alınmış olur. *Salmonella*'nın etkin kontrolü ancak çiftlikten sofraya kadarki bütün üretim ve tüketim basamaklarında gıda hijyen kurallarının tam ve doğru bir biçimde uygulanması ile mümkündür. Bu uygulamalar; barmakların dezenfeksiyonu, çiftliklerde bakteri için vektör görevi görebilecek rodent ve böcek kontrolü ve nakil araçlarının dezenfeksiyonu gibi uygulamalardır. Ayrıca *Salmonella* riskinin azaltılmasında kesimhaneler büyük bir rol üstlenmektedir. Çünkü kesim işlemleri sırasında çapraz kontaminasyon veya yanlış kesim işlemleri sebebiyle (bağırsakların kesilmesi) karkasın direkt kontaminasyonu ile mikrobiyal yük büyük oranda artabilir. Yapılan çalışmalarda canlı hayvanlarda *Salmonella* pozitiflik oranı %3-4 iken kesimden sonrası, son üründe bu oranın %20-35'lere çıktığı görülmüştür (Çalıcıoğlu, 2010). Kesim ağırlığına

ulaşan hayvanların kesimden 7-8 saat önce aç bırakılması mikrobiyal yükü azaltır. Kesilen hayvanın karkası en kısa sürede +4 dereceye düşürülmezse mikrobiyal faaliyetleri kontrol altına almak oldukça güçleşir (Çalıcıoğlu, 2010).

Ülkemizde *Salmonella* ve diğer gıda kaynaklı zoonotik etkenlerin halk sağlığına yönelik risklerini ve görülme sıklığını azaltmak amacıyla yem dahil özellikle birincil üretim olmak üzere, üretim, işleme ve dağıtımın ilgili tüm aşamalarında tespiti ve kontrolü için uygun ve etkili tedbirlerin alınmasına ilişkin usul ve esasları düzenlemek amacıyla “*Salmonella* ve Belirlenmiş Diğer Gıda Kaynaklı Zoonotik Etkenlerin Kontrol Altına Alınması Hakkında Yönetmelik” yürürlüğe girmiştir (2014).

### Aşılama

Kanatlı hayvanlarda aşılama, *Salmonella*'nın genel kontrolünde insanlarda daha düşük insidansla sonuçlanan önemli bir korunma yöntemidir. *Salmonella* çoğunlukla kümes hayvanlarında subklinik olduğundan ve enfeksiyon fark edilmeyebileceğinden, tüm sürüye sessiz bir yayılmayı önlemek için aşılama gereklidir. Aşılama ayrıca haşere ile temas, çevresel ortamdan veya enfekte olmuş yemden enfeksiyon ve yeniden enfeksiyonun önlenmesine de yarar sağlar. Yeterli sayıda kanatlı aşılanırsa, sürüde aşılanmamış olanları da koruyabilecek bir sürü bağışıklığı gelişir. Aşılanan kanatlıların yavruları da, maternal antikolar yoluyla korunmuş olurlar (Desin ve ark., 2013). Aşı geliştirmenin son derece teknik alanında, doktorları ve veteriner hekimleri, halk sağlığı örgütlerini ve ilaç şirketlerini birleştiren “Tek Sağlık” yaklaşımı, özellikle Avrupa’da *Salmonella*'nın düşüşüne katkıda bulunan yeni aşıların geliştirilmesi ve optimizasyonunda yararlı olmuştur. *Salmonella* aşıları canlı attenüe, inaktif ve subunit aşılar olmak üzere 3 kategoriye ayrılmaktadır. İdeal olarak aşı kullanımı güvenli olmalı, çapraz koruma sağlamalı, iyi tanımlanmış olmalı ve hücresel bağışıklığı harekete geçirebilmelidir (Barrow, 2007). İnsanlarda ağızdan tatbik edilen canlı zayıflatılmış Ty21a (Vivotif) ve enjekte edilebilir Vi kapsüller polisakkarit (Vi CPS) aşısı bulunmaktadır. Kanatlılarda kullanılan aşılar: *S. gallinarum* 9R suşu (Nobilis SG 9R) canlı aşı olarak kullanılan bir aşıdır bu aşı aynı zamanda *S. enteritidis*'e karşı da koruyuculuk sağlamaktadır (Ferberwee ve ark., 2001). Ayrıca *S. enteritidis*'e karşı ise *S. enteritidis* phop/fliC mutant aşı suşu tavuklarda canlı aşı olarak kullanılmaktadır. İnaktif aşı olarak da *S. enteritidis* aşı suşunu içeren Selenvac ve Layermune SE aşıları vardır (Woodward ve ark., 2002).

### 3.3. *Listeria monocytogenes*

*Listeria*'lar Gram pozitif, çomak şeklinde, sporsuz ve fakültatif anaerob bakterilerdir (Vazquez ve ark., 2001; Sukhadea ve ark., 2009). Son taksonomik çalışmalara göre 18 türü vardır ve 2 grup altında incelenmektedir. Birinci grup 6 adet türden oluşur; *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. marthii*. Bu türler, genellikle asemptomatik hayvanların sindirim sisteminden ve bu hayvanlardan üretilen gıda ürünlerinde izole edilebilir (Chiara ve ark., 2015). İkinci grupta yer alan türler çevreden izole edilir fakat insanlarda ve hayvanlarda bulunmaz (Chiara ve ark., 2015). *L. monocytogenes* hem insanlarda hem de hayvanlarda enfeksiyona yol açabilir. Özellikle hayvanlardan insanlara hayvansal ürünlerin tüketimi ile bulaşarak gıda kaynaklı zoonotik enfeksiyonlara neden olur. AB’de, *Salmonella* ve Shiga benzeri toksin oluşturan *E. coli* ile birlikte, şiddetli hastalık ve ölüm oranları yüzünden önemli gıda kaynaklı patojenler arasında yer almaktadır (EFSA-ECDC, 2015). Özellikle hamile, yaşlı, immun sistemi zayıf bireylerde şiddetli enfeksiyonla seyreder (Liu, 2005). *L. monocytogenes*'e bağlı ortaya çıkan yaygın semptomlar; ateş, sulu ishal, mide ağrısı, baş ağrısı, kaslarda ağrı ve mide bulantısıdır. Fakat şiddetli enfeksiyonlarda; abort, bakteriyemi, septisemi ve meningoensefalit görülebilir (Sukhadeo ve ark., 2009). *L. monocytogenes*'in paslanmaz çelik ve plastik dahil olmak üzere çeşitli gıda temas yüzeylerinde biyofilm oluşturma yeteneği vardır (Oliveira ve ark., 2010). Diğer gıda kaynaklı patojenlere göre insidansı düşük olmasına rağmen yüksek bir mortaliteye (%20 ile %30) sahiptir (İreton, 2006).

### Epidemiyoloji

*L. monocytogenes* genellikle toprakta, kirli silajda ve artılmamış suda bulunur ve bu nedenle hem hayvansal hem de bitki kaynaklı gıda ürünlerini kolayca kontamine edebilir. *L. monocytogenes* enfeksiyonunun önemli bir kaynağı, uzun raf ömürleri (bir veya daha fazla hafta) ve tüketime kadar düşük sıcaklıkta depolanmaları nedeniyle *L. monocytogenes* üremesi için uygun bir ortam sağlayan işlenmiş hazır gıdalardır. Etkenin ekolojisi hala tam olarak anlaşılamamıştır ve bazı suşların gıda

endüstrisinde bulunan çevresel koşullara uyum kapasitesi, yüksek kaliteli, güvenli gıda üretimini oldukça zorlaştırmaktadır (Şanlıbaba ve ark., 2018).

Ruminantlar, *L. monocytogenes*'in asemptomatik taşıyıcıları olabilir. Ancak bu patojenik bakterinin neden olduğu infektif hastalık vakaları da vardır. Her iki durumda da, hayvanlar bakterileri dışkıları ile yayarlar. Uygun koşullarda, mikroorganizmalar dışkıda uzun süre hayatta kalabilir. Taşıyıcı hayvanlar kendi sürülerindeki diğer hayvanların yanı sıra aynı merayı kullanan diğer sürülerdeki hayvanların enfeksiyonundan da sorumlu olabilir (Hurtado ve ark., 2017). Kümes hayvanları da *L. monocytogenes* tarafından kolonize edilebilmekle birlikte infekte kümes hayvanı eti tüketimi yüksek Listeriyozis insidansı ile ilişkili değildir. Kanatlılarda ve onlardan elde edilen ette bu patojenin ortaya çıkma sıklığı hakkında da veri yoktur (Rothrock ve ark., 2017).

WHO'nun *L. monocytogenes*'in insidansı üzerine yaptığı değerlendirmeye göre bölgeler arasındaki oranların benzer olduğu görülmüştür (Afrika, Güney Akdeniz ve Kuzeydoğu Asya'da 0,1/100.000 insan, Avrupa ve Batı Pasifik'te 0,2/100.000 insan ve Amerika'da 0,3/100.000 insan). İlginç bir şekilde bazı Kuzey Avrupa ülkelerinde insidans daha yüksektir (0,6-1,6/100.000 insan). Bunun sebebi son zamanlarda artan tüketime hazır et ve balık ürünlerinin tüketiminin artması olabilir (EFSA, 2012). Nordhout ve ark. (2014)'na göre Listeriyozisin 2010 yılında küresel olarak 23150 enfeksiyona ve 5463 ölüme yol açtığı tahmin edilmiştir. 2013 yılında Avrupa'nın 27 farklı şehrinde 1763 insan Listeriyozis vakası görülmüş ve bu vakaların 191 tanesi ölüme sonuçlanmıştır (EFSA, 2015). Listeriyozis invaziv olsun veya olmasın %95 gibi büyük bir hastane yatış oranına sahiptir. Mortalite oranı ise %20 ile %30 arasında değişmektedir. Türkiye'de gıda kaynaklı Listeriyozis salgınları düzenli olarak belgelenmemiştir, çünkü bunlar epidemik düzeylere ulaşmamıştır. Koyun ve sığır gibi hayvanlarda yaygın olarak görülmekle birlikte, yenidoğanlarda ve kemoterapi gören kanser hastalarında gıda kaynaklı bazı Listeriyozis salgınları bildirilmiştir (Şanlıbaba ve ark., 2018).

### Antimikrobiyal Direnç

1988'de Fransa'da ilk MDR (kloramfenikol, eritromisin, streptomisin, ve tetrasikline karşı) *L. monocytogenes* suşunun meningoensefalit olgusundan izolasyonundan (Salmeron ve ark., 1990) bu yana, gıda ve çevresel ve klinik numunelerden izole edilen çeşitli suşlar bir veya daha fazla antibiyotiğe direnç göstermiştir. Direnç seviyeleri suşlar arasında değişiklik göstermekte olup insanlarda ve hayvanlarda antimikrobiyal kullanım ve coğrafi farklılıklardan da etkilenmektedir (Şanlıbaba ve ark., 2018). Ampisilin, rifampin, ya da penisilin/gentamisin kombinasyonu Listeria enfeksiyonlarının tedavisinde ilk seçenek olarak kullanılmaktadır. Ko-trimaksazol ise ikinci seçenek olarak kullanılır (Charpentier ve Courvalin, 1999). Vankomisin ve eritromisin ise yalnızca bakteriyemi ve hamile kadınlardaki Listeria enfeksiyonlarında kullanılır. Genellikle gıda, çevre ve kliniklerden izole edilen *Listeria*'ların çoğu Gram pozitif bakterilere etkili olan antibiyotiklere duyarlıdır. Bununla birlikte, *L. monocytogenes* suşlarının çoğu şu anda kullanılan üçüncü ve dördüncü kuşak florokinolonlara ve sefalosporinlere karşı doğal olarak dirençlidir (Bryne ve ark., 2016). Poulsen ve arkadaşlarının 1958-1985 yılları arasında kapsayan çalışmasında insanlardan izole edilen 156 *L. monocytogenes* suşunun 12 çeşit antibiyotiğe duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Farklı yollarla izole edilen suşlar arasındaki duyarlılık modellerinin karşılaştırılması, *L. monocytogenes*'in antimikrobiyal duyarlılığının son 27 yılda (1958-1985) değişmediğini ve 1985'te 12 çeşit antibiyotiğe duyarlı olduğunu göstermiştir. ABD'de Teksastaki 21 adet *L. monocytogenes* izolatının su, lahana ve farklı çevre örneklerinden antibiyotiğe direnci araştırılmış ve 20 izolatın tedavide kullanılan en az iki antibiyotiğe dirençli olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada 20 ilaca dirençli izolatın 17'si penisiline dirençli ve birinin ise gentamisine dirençli olduğu ortaya çıkmıştır (Prazak ve ark., 2002). İtalya'da Aureli ve ark. (2003) farklı gıda ürünlerinden elde ettikleri 148 *L. monocytogenes* suşunun hepsinin fosfomisin, linkomisin ve flumekuine karşı dirençli olduğunu bulmuşlardır. Türkiye'deki çiğ veya pişmiş et ürünü numunelerinden elde edilen izolatların sefalotin ve nalidiksik aside dirençli olduğu tespit edilmiştir (Yücel ve ark., 2005). Yine Türkiye'de başka bir çalışmada tüketime hazır yiyeceklerden izole edilen *L. monocytogenes* izolatlarının oksitetrasikline ve vankomisine dirençli olduğu tespit edilmiştir (Terzi ve ark., 2015). Görüldüğü üzere *L. monocytogenes*'in çoklu ilaç dirençlilik oranı yıldan yıla artmaktadır. Bu durumun en önemli sebebi insan ve hayvan sağlığında antibiyotiklerin aşırı ve gereksiz yere kullanılması ve aynı antibiyotiklerin hayvanların yemlerine büyüme takviyesi amacıyla katılmasıdır.

### Koruma ve Kontrol Önlemleri

Uygun aşilar bulunmadığından ve enfeksiyon esas olarak insan ve hayvanlar arasında gıdalar yoluyla bulaştığından, hijyenik uygulamalar hastalığın yayılmasını önleyebilir. Gıdalardaki *L. monocytogenes*'i azaltma stratejileri hijyenik ve sıhhi üretim uygulamalarına bağlı olmalı ve *L. monocytogenes*'in gıdalar ve çevre arasındaki kolonizasyonu ve çapraz kontaminasyonu azaltılmalıdır. *L. monocytogenes* için etkili bir kontrol önlemi; çiftlikleri, gıda üretim tesislerini ve yaşam ortamlarını hedef almalıdır. Çiftliklerde hayvanlar temiz ve kuru ortamlarda yetiştirilmeli özellikle hayvanların altlığı nemli olmamalıdır. Çünkü bu durum patojenin üremesi için elverişli bir ortam sağlar. Çiftliklerde ahırlar temizlenmeli ve düzenli olarak dezenfekte edilmelidir. Özellikle yemlerin depolandığı alanlarda yabancı (rezervuar görevi gören) hayvanların girişi engellenmelidir. Gıda üretim tesislerinde HACCP sistemi uygulanmalıdır. İzleme planları, sanitasyon uygulamaları, işleme ve paketleme işlemleri, personel hijyeni ve *L. monocytogenes* için rutin test programları yapılmalıdır. İzleme sırasında patojen bulunursa daha fazla bulaşmayı engellemek için patojenin kaynağı bulunmalı ve bertaraf edilmelidir. Gıda üretim şirketlerindeki çalışanlar sıhhi uygulamaların önemini anlamaları için eğitilmelidir. İnsan ve ekipmanın hammadde alanlarından bitmiş ürün alanlarına taşınması, temiz eldiven giyilmemesi, sağlıksız eşyaların veya ekipmanların taşınması ve daha sonra bitmiş ürünlere dokunmak gibi uygulamalardan kaçınılması gerekmektedir. Gıda üretim ve depolama işletmelerindeki soğutma ünitelerinin sıcaklıkları sürekli kontrol edilmelidir. Son tüketim tarihi geçmiş ürünler imha edilmeli asla tüketime sunulmamalıdır. Tüketicilerin gıda güvenliği konularında iyi eğitilmiş olmaları önem arz etmektedir. Özellikle tüketime hazır yiyeceklerin iyice pişirildikten sonra yenmesi gerekir.(EFSA-ECDC, 2019).

#### 3.4. *Escherichia coli*

*E. coli* Gram negatif, sporsuz, çomak ve fakültatif anaerob bir bakteridir. *E.coli* türlerinin çoğu zararsızdır fakat bazıları insanlar ve hayvanlar için ciddi patojendir (Garcia ve ark., 2010). *E. coli*'nin şimdiye kadar tanımlanmış en az 8 patotipi bulunmaktadır; *Enteropatogenik E. coli* (EPEC), *Enterohemorajik E. coli* (EHEC aynı zamanda şigatoksin ürettiğinden STEC veya verotoksin ürettiğinden VTEC olarakta bilinir), *Enterotoksijenik E. coli* (ETEC), *Enteroagregatif E. coli* (EAggEC), *Enterovirulent E. coli* (EEC), Enteroinvasiv *E. coli* (EIEC), Diffüz şekilde adhere olan *E. Coli* (DAEC), Nekrotizan faktör üreten *E. coli* (NTEC) ve Üropatojenik *E. coli* (UPEC) (Moxley ve Smith., 2010). Bu patojen *E. Coli* türlerinden EHEC hem insanlarda hemde hayvanlarda hastalığa yol açabilen ve insanlara genelde gıda ile bulaşan en önemli *E. coli* patotipidir. EHEC yani *E. coli* O157:H7 37°C'de ve pH 7,2'de üreyebilen bir *E. coli* türüdür.

*E. coli* O157:H7 *Shigella dysenteria* tip1'in ürettiği "Shiga toksin" ile homolog yapıda "Shiga benzeri toksin1(Stx1)" ve "Shiga benzeri toksin2(stx2)" olarak iki ayrı toksin üretir ve bu toksinler hela ve Vero doku kültürü hücrelerine toksik etki yaptığı için verotoksin1 ve 2 (Vt-1 ve Vt-2) olarak da adlandırılır. EHEC enfeksiyonları hafif ve şiddetli ishal ataklarına neden olabilir ve enfeksiyonların %5-10'u Hemolitik Üremik Sendrom'a (HÜS) dönüşebilir. Bu komplikasyon böbrek yetmezliği ve ölüme yolaçabilecek kadar ciddi bir komplikasyondur.

#### Epidemiyoloji

*E. coli* için temel rezervuar sığırların sindirim sistemidir, ancak diğer hayvanlarda rezervuar olabilir. EHEC ihbarı zorunlu bir hastalıktır (Scallan ve ark., 2011). EHEC ilk defa 1982 yılında CDC'nin bir fast food zincirindeki yiyecekten kaynaklanan iki adet şiddetli kanlı ishal vakasında yaptığı araştırmada ortaya konmuştur. Daha sonraki yıllarda Kuzey Amerika'daki yapılan araştırmalarda HÜS vakalarının %85-95'inden sorumlu olarak EHEC gösterilmiştir (Armstrong ve ark., 1996).

2015 yılında ABD'de 5901 EHEC vakası bildirilmiştir (EFSA 2016). AB bildirim oranı 100.000 kişide 1,25 vaka olup, 2014'teki orandan biraz daha düşüktür. 2011'de AB'de nadir görülen *E. coli* O104:H4 türü şimdiye kadar kaydedilen 2. büyük ve en ölümcül *E. coli* ile ilişkili hastalık salgını olarak kayıtlara geçmiştir. Bir salgında 800 HÜS vakası tespit edilmiş ve HÜS'lü erişkin hastaların yüksek oranda olduğu (yaklaşık %25) ve ilginç bir şekilde bu hastalarda nörolojik semptomlarında ortaya çıktığı tespit edilmiştir (Frank ve ark., 2011). Araştırmalar bu klinik bulguların *Enteroagregatif E. coli* ve EHEC'in kombinasyonundan kaynaklandığını öne sürmüşlerdir.

EHEC enfeksiyonları küçük bir bölgede sporadik veya daha büyük salgınlar şeklinde ortaya çıkabilir. Bulaşma fekal-oral yolla gerçekleşir ve sıklıkla kontamine yiyecek ve suyun yutulması yoluyla bulaşabilir. Nadirde olsa inhalasyon yoluyla da bulaşabilir (Grant ve ark., 2008). EHEC salgınları, restoranlar, ev mutfakları, çiftlikler, hayvanat bahçeleri, okullar ve havuzlardan kaynaklı kontaminasyonla yayılım gösterebilir (Davies ve ark., 2005). Bunların dışında sulama suyuda kirletici olabilir (Salomon ve ark., 2002). EHEC bir toprak zoonozu olan *Acanthamoeba polyphaga* da hayatta kalıp çoğalabilir ve durumda çevresel kontaminasyonu oluşturabilir (Barker ve ark., 1999). Enfekte bireyler oldukça bulaşıcıdır ve bir halk sağlığı tehditi olarak düşünülebilir (Ahn ve ark., 2009). Herhangi bir salgın sırasında teşhis edilen EHEC vakalarının yaklaşık %20'si ikincil bulaşmanın sonucudur; bu tür bulaşma oranları 6 yaşından küçük çocuklarda dahası görülebilir (Snedeker ve ark., 2009). Sığırlarda EHEC'in fekal prevalansı, yaş grubuna, mevsime ve izolasyon teknolojisine bağlı olarak değişmektedir (Hussein, 2007). Et sığırlarında daha önce yayımlanan raporları değerlendiren bir çalışmada, yemliklerde prevalansın %0.3–19.7 olduğu, merada ise %0.7–27.3 olduğu bulunmuştur (Hussein, 2007). Süt sığırlarının fekal örneklerinin incelendiği bir başka çalışmada, EHEC prevalansının (%0.2–48.8) gibi geniş bir aralıkta olduğu saptanmıştır (Hussein ve Sakuma, 2005). Kuzey Amerika'da yapılan birçok çalışma enfeksiyon pikinin yaz aylarında ve sonbahar başında görüldüğünü ortaya koymuştur. Yapılan bir çok çalışmaya göre ruminant olmayan hayvanlarda EHEC prevalansının çok düşük olduğu gösterilmiştir (Hancock ve ark., 1998).

### Antimikrobiyal Direnç

EHEC klinik izolatları aslında birçok antibiyotiğe duyarlıdır. Birçok çalışma bu serotip için antibiyotik dirençliliğin çok yaygın olmadığını göstermiştir. Bir çalışmada 174 EHEC suşundan sadece 5'inin (%2.9) bir antibiyotiğe olduğu dirençli olduğu tespit edilmiştir (Ratman ve ark., 1988). CDC'nin 1983-1985 yılları arasındaki yaptığı bir çalışmaya göre 200 EHEC suşundan sadece 2 suşun (%1) bir antibiyotiğe dirençli olduğu tespit edilmiştir (Bopp ve ark., 1987). Ancak, 1989'daki Missouri bölgesinde meydana gelen su kaynaklı EHEC salgınından izole edilen suşun streptomisin, sülfametaksazol ve tetrasiklin'e dirençli olduğu gösterilmiştir (Swerdlow ve ark., 1992). 2019 yılında ECDC tarafından yayımlanan rapora göre en yüksek direnç tetrasiklin'e daha sonra sırasıyla sülfametaksazol, ampisilin ve trimetoprim karşı saptanmıştır. ECDC'nin yayınladığı bu rapordaki veriler Avrupa Birliği üyesi ülkelere aittir. Raporda yer alan kloramfenikol, nalidiksik asit ve siprofloksasin direnci diğer dört adet antibiyotiğe oranla daha düşüktür (ECDC, 2019).

### Koruma ve Kontrol Önlemleri

İnsanlardaki EHEC enfeksiyonlarının henüz spesifik bir tedavisi bulunmamaktadır. İntravenöz sıvı ve elektrolit alımını içeren destekleyici tedavi yapılır (Ake ve ark., 2005), fakat antibiyotik kullanımı HÜS riskini arttırdığı için kontrendikedir (Ahn ve ark., 2009). İnsanlardaki korunma stratejileri aşılarda, Gb3 analogları ve Stx'e karşı monoklonal antikorlardan oluşmaktadır (Bitzan, 2009). EHEC enfeksiyonlarının önlenmesindeki en önemli yaklaşım HÜS'ü önlemek olacaktır. Ayrıca hayvanlardan bulaşmayı en aza indirmek de en temel korunma önlemlerinden biridir (Ahn ve ark., 2009). El yıkama EHEC veya EHEC olmayan *E.coli* kaynaklı enfeksiyonların bulaşma riskini azaltan ilk ve en önemli korunma basamağını oluşturmaktadır (Weese, 2010). Çiftliklerdeki zoonotik EHEC'in kontrolü öncelikle organizmanın ana kaynağını hedeflemelidir; insanlarda EHEC hastalığı riskini azaltabilmek çiftlik, nakliye, işleme birimi, distribütör ve perakende/hazırlayıcı/tüketici düzeyinde azaltılmakla mümkün olacaktır (Farbothor ve Nadeau., 2006).

EHEC'in temel kaynağının sığır olduğu düşünüldüğünde öncelikli önlemlerin besi çiftliklerinde ve mezbahalarda alınması gerekir. Ahırların temizliğine özen gösterilmelidir. Süt sağımından hemen önce inek memelerinin mutlaka uygun dezenfektanlarla dezenfekte edilmesi ve EHEC'in sütü kontamine etmesinin önlenmesi gerekmektedir. Hayvanların yemlerinin kontamine olmamasına mutlaka dikkat edilmesi gereklidir. Sığırlarda EHEC'in azaltılmasında kullanılan yöntemler; probiyotik kullanımı, aşılama, antibiyotik kullanımı, bakteriyofaj kullanımı ve diğer yem katkı maddeleri kullanımıdır (Sergeant ve ark., 2007).

## Aşılama

HÜS'ün halk sağlığı için ciddi bir tehdit olması uzmanları, hastalıktan korunma için yeni yöntemler aramaya itmiştir. Aşılama bağırsak kolonizasyonunu ve dışkı ile etkenin atılımını azaltarak sığırların EHEC taşıma ve yayma potansiyelinin azaltılmasında en umut verici yaklaşımdır. Sığırlarda EHEC prevalansının azaltılması potansiyel olarak insanlardaki hastalığın insidansında önemli bir düşüş sağlayabilir (Cox ve ark., 2010). 2013 yılına kadar biri tip 3 sekresyon proteinlerini, siderefor reseptörünü ve porin proteinlerini hedef alan diğeri ise 2009 yılında sadece besi sığırlarında kullanılmak üzere üretilen 2 ticari aşı bulunmaktaydı (Tonsor ve ark., 2015). Daha sonraları toksoid, ölü, canlı, subunit ve konjuge aşılar geliştirilmiş ve kullanılmaya başlanmıştır.

### 3.5. *Yersinia enterocolitica*

*Yersinia* spp. Enterobacteriaceae ailesinde yer alan, Gram negatif, kokobasil, fakültatif anaerob bakterilerdir. Bu bakterinin 17 adet serovarı bulunmaktadır. Bunlardan sadece 3 tanesi insanlar için patojeniktir; *Y. pestis* (Veba etkeni), *Y. pseudotuberculosis* (çok sık görülmemekle beraber gastroenterit ve mesenterik adenite yol açabilir) ve *Y. enterocolitica* (gıda kaynaklı zoonotik etken)'dir (Pechous ve ark., 2016; Rakin ve ark., 2015). *Y. enterocolitica* yaklaşık 60 yıl önce keşfedilmiş fakat insan veya hayvan için patojen olduğu anlaşılamamıştır. Ancak 1960'lı yılların sonuna doğru bu bakterinin gıda kaynaklı bir patojen olduğu tespit edilmiştir (Kay ve ark., 1983). Bakterinin optimum üreme sıcaklığı 0°C ile 45°C arasındadır. Soğutma sıcaklıklarında çoğalabildiği için gıda kaynaklı hastalıklar açısından büyük bir tehlike arz eder. *Y. enterocolitica* insanlarda hafif bir ishalden, akut apandisite veya Crohn hastalığına benzer şekilde ağır seyredabilen farklı klinik tablolara yol açabilir (Baylan ve Abaslı, 2005). İnsanlarda enfeksiyona yol açan *Y. enterocolitica* suşları; O:3, O:5, O:8 ve O:9'dur.

## Epidemiyoloji

*Y. enterocolitica*, normal insan florasında bulunmaz. Ancak oldukça geniş ekolojik dağılıma sahiptir (Bockemühl ve Wong, 2003). *Y. enterocolitica*'nın doğal rezervuarları arasında, vahşi, ev ve kesim hayvanlarının oluşturduğu tüm sıcakkanlı hayvanlar (kemiriciler, tavşan, kuş, geyik, balıklar, sığır, domuz, koyun, keçi, at, sığır, köpek ve kedi gibi) sayılabilir (Butler, 2000; Bockemühl ve ark., 2003). Zaman zaman kabuklu veya kabuksuz deniz canlılarında da bulunabilmektedir (Bockemühl ve Wong, 2003). Primer hastalık sonrası iyileşen birçok hayvan, taşıyıcı olarak kalmakta; dışkıları ile bakterileri büyük miktarlarda dışarı atmakta ve böylece toprak, göl, dere, içme suları, sebze gibi besin maddeleri kontamine olmaktadır. Ayrıca süt ve süt ürünlerinde de bulunabilir (Bockemühl ve ark., 2003). *Y. enterocolitica* enfeksiyonlarının insana bulaşmasındaki en büyük rolü kontamine yiyecekler üstlenmektedir (Sağun ve Özer., 1996). *Y. enterocolitica* süt, peynir, dondurma, et (sığır, koyun, domuz, kanatlı), deniz ürünleri, hamburger, sos, mantar salatası, puding gibi besinlerden ayrıca havuç, domates, yeşil salata gibi sebzelerden de izole edilmiştir (Lee, 1979). *Y. enterocolitica*'nın insanlara bulaşmasında domuzların çok önemli rol oynadığı ve bu etkenin sebep olduğu enfeksiyonların domuz etinin bol tüketildiği ve özellikle çiğ olarak yenildiği batı ülkelerine göre daha yaygın olduğu bildirilmiştir (Lee, 1979). Sonuç olarak birçok besin maddesi *Y. enterocolitica* için rezervuar görevi görmekte ve halk sağlığı açısından potansiyel bir risk faktörü olarak karşımıza çıkmaktadır. Soyutemiz ve ark.'larının Batı Anadolu Bölgesine ait 100 adet çiğ süt örneğinden 20 tanesinde *Y. enterocolitica* serotip O:3 saptamışlardır.

Hastalıkları Önleme ve Kontrol Merkezi (CDC)'ne göre, ABD'de her yıl ortalama 17.000 olgu gözlenmektedir. Hollanda, Belçika, Kanada ve Avustralya'da akut bakteriyel gastroenterit etkeni olarak *Y. enterocolitica* sıklığı, *Shigella*, *Salmonella* ve *Campylobacter*'i geçmiştir (Cover ve Aber, 1989). *Y. enterocolitica* enfeksiyonları Afrika'nın ve Güneydoğu Asya'nın tropikal bölgelerinde izlenmemektedir (Butler, 2000; Bockemühl Wong, 2003). Ülkemizde *Y. enterocolitica* gastro enteritinin sıklığını araştırmaya yönelik çalışmaların sayısı sınırlıdır. Ülkemizin nispeten ılıman iklimte sahip olması ve *Y. enterocolitica* enfeksiyonlarının bulaşmasında oldukça etkili olan domuzların tüketilmemesi sebebiyle söz konusu enfeksiyonların önemli bir risk oluşturmadıkları görülmektedir (Baylan, 1996).

## Antimikrobiyal Direnç

*Y. enterocolitica* O:3 izolatlarının neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılabilecek her hangi bir antibiyotik tanımlanmamıştır, ancak septisemik hastalarda trimetoprim-sülfametaksazol, tetrasiklin,

florokinolonlar, gentamisin ve kloramfenikol kullanılması önerilmiştir (Prats ve ark., 2000). *Y. enterocolitica*'nın antibiyotik duyarlılık paternleri suşa göre değişkenlik göstermektedir. Biogrup 1B suşları (sero grup O:8) karbenisilin, tikarsilin ve sefalotine dirençlidir ancak genellikle ampisiline duyarlıdır (Preston ve ark., 1994). Bununla birlikte biogrup 1A suşu amoksisilin/klavulonik asit ve sefoksitine karşı direnç göstermektedir (Ahmedy ve ark., 1985). Biogrup 3 suşları (O:1,2,3 ve O:5,27) karbenisilin ve tikarsiline duyarlı olarak bildirilmiştir, ancak amoksisilin/klavulonik asit ve sefoksitine karşı direnç göstermektedir (Pham ve ark., 1991). Yukarıda bahsedilen antibiyotiklerin aksine, *Yersinia* tetrasiklin ve kinolonlara duyarlıdır (Pham ve ark., 1995). *Y. enterocolitica* O:3 suşunun 1985, 1987, 1995 ve 1998 yılları arasındaki antibiyotik dirençlilik trendlerinin karşılaştırıldığı son bir rapora göre; 1985'ten 1987'ye kadar elde edilen ampisiline dirençli tüm izolatların %72'si streptomisine, %45'i sülfonamidlere, %28'i trimetoprim-sülfametaksazole ve %20'sinin kloramfenikole dirençli olduğu bildirilmiştir. İlginç bir şekilde 1995'ten 1998'e kadar, *Y. enterocolitica* suşlarının streptomisine, trimetoprim-sülfametaksazole ve kloramfenikole direncinin arttığı gözlemlenmiştir (Prats ve ark., 2000).

### Koruma ve Kontrol Önlemleri

Herhangi bir bölgedeki *Y. enterocolitica* enfeksiyonlarına karşı yapılacak halk sağlığı koruyucu önlemleri rezervuar hayvanlara odaklanmalıdır (Butler, 2000). Kesim yapan görevlilerin hayvan kesimini uygun bir şekilde yapmaları önemlidir. Örneğin hayvanın ağız boşluğu ve bağırsak içeriğinin etlerle teması önlenmelidir. Bağırsak ürünleri ile yetersiz pişirilmiş etlerin tüketiminden kaçınılmalıdır. Mandıralarda sütün pastörizasyonundan sonra kontaminasyonu önleyici tedbirler alınmalıdır. Yemek yapmadan veya yemeden önce mutlaka eller bol sabunlu suyla yıkanmalıdır. Evcil hayvanlarla temastan sonra da ellerin yıkanması gerekir. Mutfaklardaki çapraz kontaminasyonun önlenmesi için; mutlaka et ve sebze doğrama tahtaları ayrı olmalı ve tahtalar kullanımdan önce bol sabunlu suyla yıkanmalıdır. Su kaynaklarının insan ve hayvan dışkılarında korunması ve arıtımlarının düzgün yapılması gerekir. Gıda üreticilerinin gerekli saklama ve hijyen kurallarına uymamaları, gerekli sanitasyon ve sterilizasyon işlemlerini gerçekleştirmemeleri, kontaminasyon oluşumuna katkıda bulunmaktadır bu sebeple üreticilerin devlet otoritesi tarafından sürekli denetlenmesi gerekir. Kan bankaları donörlerini yakın zamanda ateş, karın ağrısı ve ishal şikayetlerinin olup olmadığı konusunda sorgulamalıdır. Eğer bu gibi semptomlar kan bağışından sonra olursa hastalar, kan bankasında bilgi vermeleri konusunda uyarılmalıdır (Butler, 2000).

### 3.6. *Enterococcus* spp.

Enterokoklar sağlıklı insanlar ve hayvanların barsak mikroflorasının üyeleri olup, çevrede yaygın olarak bulunan bakterilerdir (Foulquie ve ark., 2006). Ayrıca enterokoklar laktik asit üreten bakteriler olduklarından gıda endüstrisinde de yaygın olarak kullanılmaktadırlar (Çetinkaya ve Muş, 2010). Enterokoklar Gram pozitif, katalaz negatif, fakültatif anaerob ve kok şekilli bakterilerdir (Fisher ve Philips, 2009). Çeşitli olumsuz koşullarda bile çevrede birkaç ay canlı kalabilirler (Kramer ve ark., 2006). İnsanların bağırsaklarında en sık görülen türler; *E. faecalis* ve daha az olmak üzere *E. faecium* iken çiftlik hayvanlarında ise; sırasıyla *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. cecorum* ve *E. hirae*'dir (Devriese ve ark., 1991; French, 1998; Klein, 2003). Enterokoklar insanlarda idrar yolu enfeksiyonları, yara yeri enfeksiyonları ve endokardit gibi ciddi nozokomial enfeksiyonlara neden olan fırsatçı patojenler olarak kabul edilmektedir (Fisher ve Philips, 2009).

### Epidemiyoloji

Enterokok türlerinin kökenleri çevre, hayvan, ve insan kaynaklarına kadar değişir. Enterokoklar hem insanların, hem de hayvanların mikroflorasının önemli bir parçası olduğundan, bu kaynaklardaki dağılımı benzerdir. *E. faecalis* ve *E. faecium*'un dışkıdaki izolasyonu, hayvanlarda insanlara göre daha az yaygındır (Franz ve ark., 1999). Enterokok'un ekolojisi ve epidemiyolojisi üzerine yapılan çalışmalar, *E. faecalis* ve *E. faecium*'un düzenli olarak peynir, balık, sosis, kıyma (sığır eti) ve domuz etinden izole edildiği bildirilmiştir (Klein, 2003; Moreno ve ark., 2006). Hayvansal kökenli sosis ve peynir gibi gıdalar ısıtma işlemi tabii olmadıkları için genellikle enterokok türleri tarafından kontamine olma ihtimalleri yüksektir (Fisher ve Philips, 2009). Almanya'da bir çalışmada 155 adet hayvansal gıda örneklerinden %72'si *E. faecalis* ve %13'ü *E. faecium* olmak üzere toplam 416 enterokok suşu izole edilmiştir (Peters ve ark., 2003). Enterokok türlerinin dağılımı Avrupa çapında değişiklik gösterir. İspanya'da ve



İngiltere’de *E. faecalis* ve *E. faecium* hem klinik hem de çevresel kaynaklardan en fazla izole edilen türlerdir. İsveç’te, Danimarka’ya göre kesim hayvanlarındaki *E. faecium*’un insidansı *E. hirae*’nin insidansından daha düşüktür (Kuhn ve ark., 2003). Danimarka’da yapılan bir çalışmada hastanede yatan hastaların %57’sinde enterokok türleri izole edilirken, sağlam kişilerde bu oranın %39-40 arasında olduğu rapor edilmiştir (Mutnick ve ark., 2003). Avrupa’da son on yılda enterokoklar yara ve idrar yolu enfeksiyonunun ikinci en yaygın nedeni ve bakteriyemiyenin üçüncü en yaygın nedeni olarak bildirilmiştir (Lopes ve ark., 2005). *E. faecalis* ve *E. faecium*’un insanlara bulaşmasındaki primer etken hayvansal gıdalardır. Et ve süt ürünlerinde enterokokların varlığı ve identifikasyonuna ilişkin çeşitli araştırmalar bulunmaktadır. Cherigeune ve ark.’ları (2007) yaptıkları bir çalışmada keçi sütlerinden izole edilen enterokok suşlarının %41.82’si *E. faecium* ve *E. faecalis* identifiye etmişlerdir. Bir diğer araştırmada Valenzuela ve ark.’ları (2009) süt, peynir, et ve jambon gibi gıdalardan izole edilen 25 enterokok izolatının 9’unu *E. faecalis* ve 16’sını *E. faecium* olarak identifiye etmişlerdir. Brezilya’da incelenen çiğ sebze, çiğ et, pastörize süt ve süt ürünlerinden izole edilen 56 enterokok suşunun 27’si *E. faecalis*, 23’ü *E. faecium* ve 6’sı diğer suşlar olarak tanımlanmıştır (Riboldi ve ark., 2009). Ülkemizde ise Koluman ve ark.’ları et, peynir, yoğurt, hazır tüketilen gıdalar (burger, pizza, sütlü tatlılar, salatalar vb.) ve baharatlardan oluşan toplam 200 gıda örneğinin 100’ünün *Enterococcus spp.* (başlıca *E. faecalis* ve *E. faecium*) ile kontamine olduğunu bulmuşlardır. Gıda zinciri vankomisine dirençli enterokokların (VRE) hayvanlardan insanlara geçişinde potansiyel rezervuar olarak görülmektedir (Messi ve ark., 2006).

### Antimikrobiyal Direnç

Tüm enterokoklar beta laktam grubu antibiyotiklere intrinsik dirence sahiptir. Özellikle *E. faecium*’da penisilin ve ampisiline doğal dirençte ciddi bir artış meydana gelmiştir (Moellering, 2000). Enterokoklar aminoglikozidlere karşı düşük seviyeli bir dirence sahiptir. Trimetoprim/sülfametaksazol *in vitro* enterokoklara karşı etki gösterebilir, enterokok enfeksiyonlarının tedavisinde başarısız olmuştur (Moellering, 2000). Klindamisin ve linkomisine karşı düşük seviyede dirence sahiptir. Enterokokların klinik izolatları, özellikle *E. faecium* ampisiline karşı giderek daha dirençli hale gelmiştir. Bazı hastanelerde *E. faecium* izolatlarının %90’ından fazlasının ampisiline dirençli olduğu tespit edilmiştir (Moellering, 2000). 1980’li yılların sonlarında, VRE ilk önce Avrupa’da ve daha sonra ABD’de tanımlanmıştır (Kak ve Chow, 2002). Enterokoklarda 6 tip glikopeptid direnci tanımlanmıştır, bunlardan üçü en yaygın olanıdır; vankomisin ve teikoplanine indüklenebilir yüksek seviyeli dirençle ilişkili Van A ve Van B fenotipleri, vankomisine indüklenebilir orta ve yüksek seviyelerde dirençle ilişkili Van C fenotipidir (Teixeira ve Facklam, 2003). Van A ve Van B fenotipleri klinkle en alakalı olarak kabul edilebilir ve genellikle *E. faecalis* ve *E. faecium* suşları ile ilişkilidir. VRE suşları genellikle çoklu ilaç dirençlidirler. Ampisilin ve vankomisin direnci, *E. faecium*’da diğer türlere nazaran daha yaygın görülür (Teixeira ve Facklam, 2003). Enterokoklardaki antibiyotik dirençliliğinin en büyük sebebi çiftlik hayvanlarında aşırı kullanılan antibiyotiklerdir. Antibiyotikler hayvanlarda tedavi, profilaksi, metaflaksi veya büyümeyi teşvik edici olarak kullanılmaktadır. Genellikle hayvanların tedavisinde kullanılan antibiyotikler aynı zamanda insanların tedavilerinde de kullanılır (Aarestrup ve ark., 2002). Ne yazık ki çiftlik hayvanlarında aşırı ve gereksiz antibiyotik kullanımı, insan sağlığı için önemli bir tehdit oluşturabilecek büyük bir antimikrobiyal dirençli enterokok rezervuarı yaratmıştır. Avrupa’daki VRE’nin yükselişi gıda hayvanlarında büyümeyi teşvik edici olarak kullanılan avoparsin (vankomisin ile ilgili bir glikopeptid) kullanımı ile bağlantılıdır. Buna karşın avoparsinin hayvanlarda kullanımı için hiçbir zaman izin verilmeyen ABD’de toplumda VRE’nin yaygınlığı düşüktür (Simona ve Marcus, 2007).

### Koruma ve Kontrol Önlemleri

Hayvanların, insanlar için önemli bir enterokok (özellikle VRE) kaynağı olduğu düşünüldüğünde bu mikroorganizma ile kontamine hayvan sayısının azaltılması insanlarda ki enterokokkal enfeksiyonların sınırlandırılmasında en etkili yöntemlerden biri olacaktır. VRE kolonizasyonunu ortadan kaldırmak için etkili bir yöntem olmadığından hayvanlarda ve insanlarda glikopeptid kullanımını sınırlandırmak mantıklı bir seçenek olacaktır. Enterokoklar insanlara yalnızca hayvansal gıdaların tüketimi ile bulaşmaz, aynı zamanda çevreden de bulaşma olabileceği için özellikle hayvan çiftliklerinin hayvan dışkılarını çevreyi ve su kaynaklarını kirletmeyecek şekilde iyi bir kanalizasyon sistemiyle uzaklaştırılması çok önemlidir. Çevreden de hayvanlara bulaşmayı engellemek için çiftliklerde biyogüvenlik talimatlarına mutlaka uyulması gerekir. Özellikle ısıtma tabii olmadan üretilen

hayvansal gıdaları tüketmeden önce ısı işlem uygulamak enfeksiyon riskini büyük oranda azaltır. Kişisel hijyene dikkat edilmeli ve mutlaka dış ortamdan geldiğinde eller bol sabunlu suyla yıkanmalıdır.

### 3.7. Shigellosis

Enterobacteriaceae familyasında yer alan *Shigella*'lar Gram negatif, küçük çomak şeklinde, hareketsiz, sporsuz, kapsülsüz, fakültatif anaerobik bakterilerdir. *Shigella*'lar mezofilik bakterilerdir ve optimum üreme sıcaklıkları 37 °C'dir (Quinn ve ark., 2004). *Shigella* cinsi içerisinde yer alan önemli türler *Shigella dysenteriae*, *Shigella sonnei*, *Shigella boydii* ve *Shigella flexneri* olmakla birlikte, gıdaları kontamine eden ve daha sık rastlanılanı *S. sonnei*'dir (Baylis ve ark., 2006). *Shigella* enfeksiyonlarının yaklaşık %20'sinde tavuk eti, balık eti veya deniz ürünlerini içeren salatalar, çiğ olarak tüketilen sebzeler, çiğ kıyma, midye ve diğer deniz ürünleri, uygun koşullarda üretilmeyen içme suları gibi gıdalar aracılık eder. Kontaminasyon, özellikle sıcak ülkelerde gıdaların ve suların insan dışkı ile kirlenmesi sonucunda ortaya çıkar. Bu nedenle, bulaşmada en büyük etkenin su ve su kaynakları olduğu kabul edilmektedir. İnsandan insana bulaştığı, gıdalarla da taşınabildiği ancak, gıdaların bu bakterilerin çoğalmasında olanak tanımadığı, sadece vektör olarak rol aldığı da bilinmektedir (Baylis ve ark., 2006; Halkman, 2013). En çok bilinen adıyla Şigellosis veya basiller dizanteri, *Shigella* cinsi bakteriler tarafından meydana getirilen, insanlarda kanlı ishale sebep olan bir enfeksiyondur. Şigellosis, gıda kaynaklı hastalıkların %10'unu oluşturmakta ve yılda 300,000-450,000 kişi bu hastalıklardan etkilenmektedir. *Shigella* enfeksiyonlarında en önemli belirtiler; karın ağrısı, ateş, kusma ve kanlı ishaldir. Belirtilerin ortaya çıkma süresi 12 saat ile 50 saat arasında değişmektedir (Baylis ve ark., 2006; Halkman, 2013). Türkiye'de yapılan bir çalışmada 60 adet *Shigella* etkeninin antibiyotik dirençlilikleri incelenmiş ve bunun sonucunda; ampisiline 16 (%26,6), amoksisilin/klavulonik asite 10 (%16,6), kloramfenikole 9 (%15), nalidiksik asite 6 (%10), sefalotine 14 (%23,3), sefotaksime 4 (%6,6), tetrasikline 4 (%68,3), trimetoprim/sülfametoksazole 55 (%91,6) etken dirençli bulunmuştur (Saran 2010). *Shigella* enfeksiyonlarının kontrolünde gıda işleme alanında çalışan personelin hijyen konusunda eğitilmesi, kanalizasyon sularının tarımsal alanlarda kullanımının önlenmesi, içme sularının kontrolü ve klorlanması, kirliliği sularda yetişmiş deniz ürünlerinin tüketilmesinin önlenmesi, gıdaların hazırlanmasında soğuk zincire dikkat edilmesi ve bulaşmada aracı olan kemirgen, sinek ve böceklerin kontrolü alınabilecek önlemler arasındadır (Hastein ve ark., 2014).

## 4. SONUÇ

Bakteriyel zoonozlar küresel olarak halk sağlığını ciddi derecede tehdit etmektedir. Hayvanlarla artan temas, artan gıda ihtiyacını karşılaya bilmek için endüstriyelleşen gıda sektörü, artan seyahatler, hayvansal gıda ve hayvansal ticaretin artışı sebebiyle bakteriyel zoonozların yayılımı büyük oranda artmıştır. Önceleri endemik görülen vakalar artık sınırları aşmış küresel olarak ortaya çıkmaya başlamıştır. Özellikle gıda kaynaklı zoonozlar her geçen yıl daha fazla sayıda insanı etkileyerek önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Bunun önlenmesi için tüketicilerin gıda hijyeni eğitimi alması önemli bir adımdır. Ancak, gıda kaynaklı zoonozların ana önlemi "Tek Sağlık" yaklaşımıyla çiftlik düzeyinde başlamalıdır. Burada daha iyi hayvan sağlığı yönetimi ve hayvan refahı programlarının geliştirilmesi ile yoğun hayvancılık endüstrisinde (yani kümes hayvancılığı) üretim stresinin ve kalabalık ortamlarda ortaya çıkan çiftlik kaynaklı patojenlerin büyük oranda azaltılması mümkün olabilir. Ayrıca çiftlik hayvancılığında; tedavi, proflaktik ve büyümeyi teşvik edici olarak kullanılan antimikrobialerin sebep olduğu antibiyotik direnciyle halk sağlığını ciddi derecede tehdit etmektedir. Yukarıda bahsedilen iyi çiftlik uygulamaları ile uygun antibiyotik seçimi ve gereksiz kullanımın önüne geçilmesi ile bu tehdit büyük oranda bertaraf edilebilir. Sonuçta zoonotik bakteriyel hastalıkların tanımlanması ve kontrolü insan hekimlerinin, veteriner hekimlerin, epidemiyologların, halk sağlığı çalışanlarının ve çevre sağlığı çalışanlarının ortak çabalarını içeren "Tek Sağlık" yaklaşımını gerektirir. Ayrıca uluslararası ortak sürveyans stratejileri, hızlı güvenilir ajan tanımlama teknikleri ve tedavi yöntemlerinin optimizasyonu bu tür enfeksiyonların önlenmesini ve yönetilmesini sağlar.

Uzmanlar, zoonotik hastalık salgınları üzerine birkaç genel sunumda Tek Sağlık hazırlığı stratejilerinin geliştirilmesini engelleyen temel faktörleri tartışmışlar ve dört çalışma grubu bağımsız olarak bazı konuları Tek Sağlık gündeminin uygulanmasına engel olarak tanımlamıştır. Bu konulardan biri, iletişim / koordinasyon olup, tüm çalışma grupları tarafından Tek Sağlık uygulaması için büyük bir engel olarak

belirlenmiştir. Sektörler arasında etkili iletişim kanalları olmadan, yanıt potansiyeli sınırlıdır. İletişim mekanizmaları ve çerçeveleri acil olmayan dönemlerde ve her zaman Tek Sağlık yönlerine odaklanarak oluşturulmalıdır. Bu çerçeve içinde, şu hususlar özellikle iyileştirilme ihtiyacındadır: Sektörler arasında gözetim ve erken uyarı sistemleri, koordineli müdahale planları, ortak kamu erişimi ve eğitim, sektörler arası temas noktalarının belirlenmesi.

Veri/örnek paylaşımı da tüm gruplar tarafından Tek Sağlık için bir engel olarak belirlenmiştir. Biyolojik örneklerin ajanslar arasında ulusal ve bölgesel paylaşımı sorunludur ve ülke içi kapasite eksikliğini ve sektörler arasındaki koordinasyonu yansıtmaktadır. Bunun için iyileştirme önerileri arasında, veri paylaşımı için ortak bir veritabanı, örnek paylaşım için protokoller ve çerçeveler oluşturmak, geliştirilmiş test prosedürleri sayılmaktadır. Tüm çalışma grupları, kapasitelerdeki boşlukların Tek Sağlık uygulamasına zarar verdiğini belirterek kapasite yapılandırması hususunda iyileştirme ihtiyacı olduğunu bildirmişlerdir. Salgınlarla meydana geldikleri yerde mücadele gerektiğinden, yerel kapasitenin genel eksikliği şu konulara yatırım yapılarak aşılabilir: Risk değerlendirmesi, laboratuvar becerileri, teşhis, aşı alımlarını kapsayan yerel insan kaynakları; Referans laboratuvarları, risk algısının da Tek Sağlık'taki bozulmada rol oynadığı kabul edilmiştir. Kabul edilebilir risk seviyesi halk sağlığı (ihtiyatı) ve hayvan sağlığı (daha az katı) arasında farklılık göstermektedir. Kabul edilebilir risk düzeyi konusunda daha iyi iletişim ve anlaşmaya ihtiyaç vardır. Bu konuda, kültürel eğilimlerin kabul edilmesi önemlidir. Farklı ülkeler bulaşıcı hastalıklarla mücadele etmek için farklı stratejiler kullanabilir.

Ana temalara ek olarak, çalışma grupları, Tek Sağlık uygulamasının engellenmesinde rol oynayan diğer faktörleri de şu şekilde belirtmiştir:

-Finansal sorumluluk ve fonlama zorlukları her düzeyde ortaya çıkar ve endüstri etkisi veya hayvan hakları sorunlarıyla daha da kötüleşebilir (yani insan sağlığı için hayvan aşılarına ihtiyaç duyulursa, bunu kim finanse eder?)

-Teknoloji veya aşı geliştirme ile ilgili fikri mülkiyet konuları, inceleme ve açıklama gerektirir.

-Akademik sistemdeki kariyer kısıtlamaları işbirliği faaliyetlerini etkileyebilir. Bilimsel personel, disiplinler arası dergilerde yayınlamak veya sektörler arasında işbirliği yapmakla ödüllendirilemez; fon akışları bir sektörle sınırlı olma eğilimindedir.

-Liderlik sorunları; yorumu ve tutarlılığı etkiler.

Tek Sağlık uygulamasının bu kesişen engelleri için önerilen çözümler arasında daha doğrudan finansman (örnek testleri, aşı geliştirme), zamanında numune değişimi ve horizontal hazırlıklı olmaya odaklanma yer alabilir. Ayrıca, sonuçta hastalıkların önlenmesine yol açacak sektörler arası işbirliği bu çabalara katma değer sağlayacaktır (ECDC, 2018).

## KAYNAKLAR

Aarestrup FM, Butaye P, Witte W. Nonhuman, 2002. reservoirs of enterococci. In: The Enterococci. Pathogenesis, Molecular Biology and Antibiotic Resistance Gilmore MS (ed.) ASM, Washington, DC, pp. 55-99.

Ahmedy A, Vidon DJ, Delmas CL, Lett MC., 1985. Antimicrobial susceptibilities of food-isolated strains of *Yersinia enterocolitica*, *Y. intermedia*, *Y. frederiksenii*, and *Y. kristensenii*. Antimicrob Agents Chemother 28:351-353.

Ahn CK, Holt NJ, Tarr PI., 2009 Shiga-toxin producing *Escherichia coli* and the hemolytic uremic syndrome: What have we learned in the past 25 years? Adv Exp Med Biol. 634:1-17.

Allos BM., 2001. *Campylobacter jejuni* Infections: Update on Emerging Issues and Trends. Clin Infect Dis. 32:1201-1206.

Anderson TC, Nguyen T, Adams JK, Garrett NM, Bopp CA., 2016. Human multistate outbreak Salmonella farming Typhimurium infections Single Health of live poultry connected to feed stores and mail order hatcheries, United States 2013. One Health. 2:144-149.

Antunes P, Mourão J, Campos J, Peixe L., 2015. Salmonellosis: The role of poultry meat. Clin Microbiol Infect. 22:110-121.

- Armstrong GL, Hollingsworth J, Morris JG., 1996. Emerging foodborne pathogens: *Escherichia coli* O157: H7 as an introduction model of a new pathogen to the food supply of the developed world. *Epidemiol Rev.* 18:29–51.
- Aureli P, Ferrini A, Mannoni V, Hodzic S, Wedell Weergaard C., 2003. İtalya'da gıdalardan izole edilen *Listeria monocytogenes*'in antibiyotiklere duyarlılığı. *Uluslararası Gıda Mikrobiyol Derg.* 83(3):325–330.
- Barker J, Humphrey TJ, Brown MW., 1999. Survival of *Escherichia coli* O157 in a soil protozoan: Implications for disease. *FEMS Microbiol Lett.* 173:291–295.
- Barrow PA., 2007. Salmonella infections: immune and non-immune protection with vaccines. *Avian Pathology.* 36(1):1–13.
- Barton BC, Jones TF, Vugia DJ, Long C, Marcus R, Smith K, Thomas S, Zansky S, Fullerton KE, Henao OL., 2011. Deaths associated with bacterial pathogens transmitted commonly through food: foodborne diseases active surveillance network (FoodNet), 1996–2005. *J Infect Dis.* 204(2):263–267.
- Bäumler AJ, Tsolis RM, Ficht TA, Adams LG., 1998. Evolution of host adaptation in *Salmonella enterica*. *Infect Immun.* 66:4579–4587.
- Baylan O, Abaslı HE., 2005. *Yersinia enterocolitica* infeksiyonları Türk Mikrobiyol Cem Derg. 35:232–247.
- Baylan O., 1996. Çocukluk yaşı grubunda akut bakteriyel gastroenterit etkenlerinin dağılımı, Uzmanlık tezi, GATA Mikrobiyoloji ve KI Mik AD, Ankara,
- Baylis CL, Penn, CW, Thielman NM, Guerrant RL, Jenkins C, Gillespie SH., 2006. *Escherichia coli* and *Shigella* spp. In: Principles and Practice of Clinical Bacteriology, Gillespie SH, Hawkey PM, John W. (ed.) Sons Ltd. England. pp. 347365.
- Bidaisee S, Calum NL., 2014. Macpherson Zoonoses and One Health: A Review of the Literature. Hindawi Publishing Corporation. *J Parasitol Res.* 2014:874345.
- Bierschenk D, Boucher D, Schroder K., 2016. Inflammatory mediated activation of Salmonella in humans. *Mole Immunol.* 86:38–43.
- Bitzan M., 2009. Treatment options for HUS secondary to *Escherichia coli* O157:H7. *Kidney Int Suppl.* 112:62–66.
- Bockemühl J, Wong JD., 2003. *Yersinia*. “P R Murray, E JBaron, M A Pfaller, J H Jorgensen, R H Tenover (eds): Manual of Clinical Microbiology”, p 672, 8th edition, ASM Press, Washington D.C.
- Bolton DJ., 2015. *Campylobacter* virulence and survival factors. *Food Microbiol.* 48:99–108.
- Bopp CA, Greene KD, Downes FP, Sowers EG, Wells JG, Wachsmuth IK., 1987. Unusual verotoxin-producing *Escherichia coli* associated with hemorrhagic colitis. *J Clin Microbiol.* 25:1486–1489.
- Boysen L, Rosenquist H., 2009. Reduction of thermotolerant *Campylobacter* species on broiler carcasses following physical decontamination at slaughter. *J Food Prot.* 72:497–502.
- Butler T., 2000. *Yersinia* species, including plague. “G Mandell, J E Bennett, R Dolin (eds): Principles and Practice of Infectious Diseases”, 5th edition, Churchill Livingstone, New York. p 2406.
- Byrne VV, Hofer E, Vallim DC and Almeida RCC., 2016. Occurrence and antimicrobial resistance patterns of *Listeria monocytogenes* isolated from vegetables. *Brazil J Microbiol.* 47(2):438–443.
- Canvas. 2013. “One Health One Medicine. Massive Open Online Course (MOOC) course on the Canvas Network,” <http://www.mooc-list.com/course/one-health-one-medicinecanvasnet>.
- CDC. 2012. National Antimicrobial Resistance Monitoring System for Enteric Bacteria (NARMS): Human Isolates Final Report, Atlanta, GA: US Dept Health Hum Serv.
- CDC. 2048. Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Soft Raw Milk Cheese Made by Vulto Creamery (Final Update)

- CDC. 2019. <https://www.cdc.gov/onehealth/global-activities/prioritization-workshop.html>
- Center for Food Security and Public Health (CFSPH) (2005) Campylobacteriosis.
- Charpentier E, Courvalin P., 1999. Antibiotic resistance in *Listeria* spp. Antimicrob Agents Chemother. 43:2103–2108.
- Cheriguene A, Chougrani F, Bekada AMA, ElSoda M, Bensoltane A., 2007. Enumeration and identification of lactic microflora in Algerian goats' milk. Afr J Biotechnol. 6:1854–1861.
- Chiara M, Caruso M, D'Erchia A, Manzari C, Fraccalvieri R, Goffredo E, Parisi A., 2015. Comparative genomics of *Listeria* Sensu Lato: Genus d evolutionary dynamics and progressive acquisition of complex, potentially pathogenicity-related traits through lateral gene transfer. Gen Biol Evol. 7(8):2154–2172.
- Chiu CH, Wu TL, Su LH, Chu C, Chia JH, Kuo AJ, Chien MS, Lin TY., 2002. The emergence in Taiwan of fluoroquinolone resistance in *Salmonella enterica* serotype choleraesuis. N Engl J Med. 346:413–419.
- Clark CG, Price L, Ahmed R, Woodward DL, Melito PL, Rodgers FG, Jamieson E, Ciebin B, Li A, Ellis A., 2003. Characterization of waterborne outbreak associated *Campylobacter jejuni*, Walkerton, Ontario. Emerg Infect Dis. 9:1232–1241.
- Claudia S, Edmundo Calva, Stanley Maloy., 2015. One Health and Food-Borne Disease: Salmonella Transmission between Humans, Animals, and Plants Microbiol Spec. 2:182–191.
- Cover TL, Aber RC., 1989. *Yersinia enterocolitica*. N Engl J Med. 321:16-24.
- Cox E, Melkebeek V, Devriendt B, Goodderis B, Vanrompay D., 2010. Vaccines against enteric *E.coli* infect animals pathogenic *E.coli* Mol Cell Microbiol. 14:225–270.
- Cummings KJ, Warnick LD, Alexander KA, Cripps CJ, Gröhn YT, James KI, McDonough PL, Reed KE., 2009. Fecal Salmonella spill time after clinical disease among dairy cattle in the northern United States. Prev Vet Med. 92:134–139.
- Çalıcıoğlu M., 2010. Kesimhanede Salmonella kontrolü: Uygulamalar ve pratik yaklaşımlar. Türkiye Klinikleri J Vet Sci. 1(2):98–104.
- Çetinkaya F, Muş T., 2010. Yararları ve Riskleriyle Gıda Kaynaklı Enterokoklar Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 1:77-83.
- Davies M, Engel J, Griffin D, Ginzl D, Hopkins R, Blackmore C, Lawaczec E, Nathan L, Levy C, Briggs G, Kioski C, Kreis S, Keen J, Durso L, Schulte J, Fullerton K, Long C, Smith S, Barton C, Gleit C, Joyner M, Montgomery S, Braden C, Goode B, Chertow D, O'Reilly C, Gupta S, Dunn J., 2005. Outbreaks of *Escherichia coli* O157:H7 associated with petting zoos: North Carolina, Florida, and Arizona, 2004 and 2005. Morbidity and Mortality Weekly Report. 54:1277–1280.
- Desin TS, Koster W, Potter AA., 2013. Salmonella vaccines in poultry: past, present and future. Expert Rev Vacc. 12(1):87–96.
- Devriese LA, Hommez J, Wijnfels R, Haesebrouck F., 1991. Composition of the enterococcal and streptococcal intestinal flora of poultry. J Appl Bacteriol. 71:46–50.
- Dookeran MM., Baccus-Taylor GSH., Akingbala JO., Tameru B., Lammerding AM., 2012. Transmission of Salmonella on broiler chickens and carcasses from production to retail in Trinidad and Tobago. JABR. 1:78–84.
- Dunkley KD, Callaway TR, Chalova VI, McReynolds JL, Hume ME, Dunkley CS, Kubena LF, Nisbet DJ, Ricke SC., 2009. Foodborne Salmonella ecology in the Avian gastrointestinal tract. Anaerobes. 15:26–35.
- ECDC-EFSA., 2014. Joint ECDC-EFSA rapid outbreak assessment: cluster of monophasic Salmonella Typhimurium with previously unseen MLVA pattern in the EU/EEA. News Release.

- European Food Safety Authority (EFSA) European Center for Disease Prevention and Control (ECDC)., 2006. Community Summary Report on Zoonosis, Zoonotic Agents, Antimicrobial Resistance and Trends in 2005 in the European Union. EFSA J. 4:94.
- EFSA., 2010. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and food-borne outbreaks in the European Union in 2008. EFSA J;
- EFSA., 2010. Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Campylobacter* in broiler batches and of *Campylobacter* and *Salmonella* on broiler carcasses in the EU, 2008. EFSA J;
- EFSA., 2012. European Center for Disease Prevention and Control. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2010. EFSA J. 10:1–442.
- EFSA., 2015. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2013. EFSA J. 13:3991.
- EFSA-ECDC., 2015. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2014. EFSA J. 13(12):4329.
- EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Center for Disease Prevention and Control)., 2016. Summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and foodborne outbreaks in 2015. EFSA J. 14:4634–4865.
- EFSA-ECDC., 2019. The European Union One Health 2018 Zoonoses Report. EFSA J. 17(12):5926.
- European Food Safety Agency (EFSA) European Center for Disease Prevention and Control (ECDC) European Union., 2016. summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and foodborne outbreaks. EFSA J. 14:e04634.
- European Union Commission Decision. 2007/516/EC of 19 July 2007.
- Fairbrother JM, Nadeau E., 2006. *Escherichia coli*: On-farm contamination of animals. Rev Sci Tech. 25:555–569.
- Feberwee A, Hartman EG, De Wit JJ, De Vries TS., 2001. The spread of *Salmonella gallinarum* 9R vaccine strain under field conditions. Avi Dis. 45(4):1024–1029.
- Fisher K, Phillips C., 2009. The ecology, epidemiology and virulence of Enterococcus. Microbiol. 155:1749–1757.
- Fleming DW, Cochi SL, MacDonald KL., 1985. Pasteurized milk as a vehicle of infection in an outbreak of listeriosis. N Engl J Med. 312:404–407.
- Foulquie Moreno, M. R., Sarantinopoulos, P., Tsakalidou, E. & De Vuyst, L.. 2006. The role and application of enterococci in food and health. Int J Food Microbiol. 106:1–24.
- Frank C, Faber MS, Askar M., 2011. Extensive and ongoing outbreak of hemolytic uremic syndrome, Germany, May 2011. Euro Surveill. 16:1–3
- Franz CMAP, Holzappel WH, Stiles ME., 1999. Enterococci at the crossroads of food safety? Int J Food Microbiol. 47:1–24.
- French GL., 1998. Enterococci and vancomycin resistance. Clin Infect 1998; 27:75–83.
- Galanis E, Lo Fo Wong DM, Patrick ME, Binsztein N, Cieslik A, Chalermchikit T, Aidara-Kane A, Ellis A, Angulo FJ, Wegener HC., 2006. Web-based surveillance and global *Salmonella* distribution, 2000–2002. Emerg Infect Dis. 12:381–388.
- Garcia A, Fox JG, Besser TE., 2010. Zoonotic enterohemorrhagic *Escherichia coli*: A health perspective. ILAR J. 51:221–232.
- Ghosh R, Uppal B, Aggarwal P., 2013. Increasing antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* isolated from paediatric diarrhea cases in a tertiary care hospital of New Delhi, India. J Clin Diagn Res. 7:247–249.

- Gillespie IA, O'Brien SJ, Frost JA, Adak GK, Horby P, Swan AV, Painter MJ, Neal, KR., 2002. A case-case comparison of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* infection: a tool for generating hypotheses. *Emerg Infect Dis.* 8:937–939.
- Goncagül G, Günaydın E, Çarlı KT., 2005. Prevalence of Salmonella serogroups in chicken meat. *Turk J Vet Anim Sci.* 29:103–106.
- Gölz G, Rosner B, Hofreuter D, Josenhans C, Kreienbrock L, Löwensteina A, Schielke A, Stark K, Suerbaum S, Wielere LH, Altera T., 2014. Relevance of Campylobacter to public health- The need for a One Health approach. *Int J Med Microbio.* 304:817–823.
- Grant J, Wendelboe AM, Wendel A, Jepson B, Torres P, Smelser C, Rolfs RT., 2008. Spinach-associated *Escherichia coli* O157:H7 outbreak Utah and New Mexico, 2006. *Emerg Infect Dis.* 14:1633–1636.
- Halkman AK., 2013. Gıda mikrobiyolojisi II ders notları. Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara. pp. 89.
- Hancock DD, Besser TE, Rice DH, Ebel ED, Herriott DE, Carpenter LV., 1998 Multiple sources of *Escherichia coli* O157 in feedlots and dairy farms in the northwestern USA. *Prev Vet Med.* 35:11–19.
- Håstein T, Hjeltne B, Lillehaug A, Skare JU, Berntssen M., 2014. Food safety hazards that occur during the production stage: challenges for fish farming and the fishing industry. *Rev Sci Tech Off Int Epiz.* 25:607–625.
- Helms M, Ethelberg S, Molbak K., 2005. International *Salmonella typhimurium* DT104 infections, 1992–2001. *Emerg Infect Dis.* 11:859–867.
- Hoelzer K, Moreno SAI, Wiedmann M., 2011. Animal contact as a source of non-human typhoid salmonellosis. *Vet. Res.* 42:34.
- Hung YT, Lay CJ, Wang CL, Koo M., 2017. Characteristics of non-antioidal gastroenteritis in Taiwanese children: A retrospective medical record review of 9 years. *J Infect Pub Health.* 10:518–521.
- Hunt DC., 2009. *Campylobacter jejuni* infection associated with unpasteurized milk and cheese Kansas, 2007. *Morb Mortal Wkly Rep.* 57:1377–1379.
- Hurtado A, Ocejó M, Oporto B., 2017. Salmonella spp. and characterization of *Listeria monocytogenes* and potentially pathogenic strains propagated in native ruminants. *Vet Microbiol.* 210:71–76.
- Hussein HS, Sakuma T., 2005. Prevalence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in dairy cattle and their products. *J Dairy Sci.* 88:450–465.
- Hussein HS., 2007. Prevalence and pathogenicity of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef cattle and their products. *J Anim Sci.* 85:63–72.
- Ireton K., 2006. *Listeria monocytogenes*. In: *Bacterial Genomes and Infectious Diseases*. Chan VL, Sherman PM, Bourke B (eds). Totowa New Jersey: Humana Press Inc. pp. 125–149.
- Kak V, Chow JW., 2002. Acquired antibiotic resistances in Enterococci. In: *The Enterococci. Pathogenesis, Molecular Biology, and Antibiotic Resistance* (Gilmore, M. S., ed.), ASM, Washington, DC. pp. 355–383.
- Kay BA, Wachsmuth K, Gemski P, Feeley JC, Quan TJ, Brenner DJ., 1983. Virulence and phenotypic characterization of *Yersinia enterocolitica* isolated from humans in the United States. *J Clin Mic.* 17(1):128–138.
- Keller JI, Shriver WG, Waldenström J, Griekspoor P, Olsen B., 2003. Prevalence of *Campylobacter* in wild birds of the mid-Atlantic region, USA. *J Wildl Dis* 2011; 47:750-754.
- Klein G. Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastrointestinal tract. *Int J Food Microbiol.* 88:123–131.
- Kobierecka PA, Wyszynska AK, Gubernator J., 2016. Chicken anti-campylobacter vaccine comparison of various carriers and routes of immunization. *Front Microbiol.* 7:740.

- Kore K, Asrade B, Demissie K, Aragaw K., 2017. Characterization of *Salmonella* isolated from apparently healthy slaughtered cattle and retail beef in Hawassa in southern Ethiopia. *Prev Vet Med.* 147:11-16.
- Kramer A, Schwebke I, Kampf G., 2006. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. *BMC Infect Dis.* 6:130.
- Kuhn, I., Iversen, A., Burman, L. G., Olsson-Liljequist, B., Franklin, A., Finn, M., Aarestrup, F., Seyfarth, A. M., Blanch, A R. & other authors., 2003. Comparison of enterococcal populations in animals, humans, and the environment – a European study. *Int J Food Microbiol.* 88:133–145.
- Kurtz JR, Goggins JA, McLachlan JB., 2017. *Salmonella* infection: interaction between bacteria and host immune system. *Immunol Lett.* 190:42–50.
- Lee MD, Newell DG., 2006. *Campylobacter* in poultry: filling an ecological niche. *Avian Dis.* 50:1–9.
- Lee WH., 1979. Testing for the Recovery of *Yersinia enterocolitica* in Foods and their Ability to Invade HeLa Cells. *Contr Mier Immun.* 5:228–233.
- Liu D, Lawrence M, Austin FW, Ainsworth AJ., 2005. Comparative assessment of acid, alkali and salt tolerance in *Listeria monocytogenes* virulent and avirulent strains. *FEMS Microbiol Lett.* 243:373–378.
- Lopes DFS, Ribeiro M, Abrantes T, Figueiredo Marques M, Tenreiro JJ., 2005. Antimicrobial resistance profiles of dairy and clinical isolates and type strains of enterococci. *Int J Food Microbiol.* 103:191–198.
- Majowicz SE, Musto J, Scallan E, Angulo FJ, Kirk M, O'Brien SJ, Jones TF, Fazil A, Hoekstra RM., 2010. The global burden of nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis. *Clin Infect Dis.* 50(6):882–889.
- Messi P, Guerrieri E, Niederhausern S, Sabia C, Bondi M., 2006. Vancomycin-resistant enterococci (VRE) in meat and environmental samples. *Int J Food Microbiol.* 107:218–222.
- Misawa N, Shinki T, Sasaki S., 2011. Development of an effective decontamination of *Campylobacter* species on chicken carcasses. Proceedings of the 16th International Workshop on *Campylobacter*, *Helicobacter*, and related organisms. August 28-September 1 2001, Vancouver, Canada.
- Moellering RCJr., 2000. *Enterococcus* species, *Streptococcus bovis*, and *Leuconostoc* species. In: Mandell's, Bennett's and Dolin's Principles and Practice of Infectious Diseases (Mandell, D., Bennett, J. E., and Dolin, R., eds.), 5th edn, Churchill Livingstone, Philadelphia, PA, 2000. pp. 2147–2152.
- Montville TJ, Matthews KR., 2008. Food microbiology: an introduction. 2nd ed. Washington, USA: ASM Press.
- Moreno F, Sarantinopoulos MR, Tsakalidou P., 2006. The role and application of enterococci in food and health. *Int J Food Microbiol.* 106:1–24.
- Moxley RA, Smith DR., 2010. Attaching-effacing *Escherichia coli* infections in cattle. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 26:29–56.
- Murray CJ, Vos T, Lozano R, Naghavi M, Flaxman AD., 2012. Disability-adjusted life years (DALYs) for 291 diseases and injuries in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet.* 380:2197-2223.
- Mutnick, A. H., Biedenbach, D. J. & Jones, R. N., 2003. Geographic variations and trends in antimicrobial resistance among *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997–2000). *Diagn Microbiol Infect Dis.* 46:63–68.
- Newell DG, Mughini-Gras L., Kalupahana R., Wagenaar JA., 2016. *Campylobacter* Epidemiyoloji — İnsan Enfeksiyonunda İletim Kaynakları ve Yolları. In: Klein G., editör. *Campylobacter: Gıda Kaynaklı Hastalıkların Özellikleri, Tespiti ve Önlenmesi.* Akademik Basın; Londra, İngiltere: San Diego, CA, ABD. 85–110.
- Nidaullah H, Abirami N, Shamila-Syuhada AK, Chuah LO, Nurul H, Tan TP, Abidin FWZ, Rusul G., 2017. *Salmonella* prevalence in poultry processing environments in wet markets in Penang and Perlis, Malaysia. *Vet World.* 10(3):286–292.



- Noordhout CM, Devleeschauwer B, Angulo FJ, et al., 2014. The global burden of listeriosis: A systematic review and metaanalysis. *Lancet Infect Dis.* 14:1073–1082.
- Office fédéral de la Santé Publique. Rapport suisse sur les zoonoses. 2010.
- Oliveira MMM, Brugnera DF, Alves E, Piccoli, RH. Biofilm formation with *Listeria monocytogenes* and biotransfer potential on stainless steel surface. *Braz J Microbio* 2010; 41:97–106.
- On SLW, Miller WG., 2017. International Committee on Systematics of Prokaryotes Subcommittee on the Taxonomy of *Campylobacter* and Related Bacteria. Minutes of the meetings, August 27 and August 31 2011, Vancouver, Canada. *Int J Syst Evol Microbiol.* 67:5312–5314
- Oueslati W, Rjeibi MR, Mhadhbi M, Jbeli M, Zrelli S, Ettriqui A., 2016. Prevalence, virulence and antibiotic susceptibility of *Salmonella* spp. Greater Tunis (Tunisia) Meat Sci. strains isolated from veal. 119:154–159.
- Pan H, Ge Y, Xu H., 2016. Molecular characterization, antimicrobial resistance and caco-2 cell invasion potential of *Campylobacter jejuni/coli* from young children with diarrhea. *Pediatr Infect Dis J.* 35:330–334.
- Pechous RD, Sivaraman V, Stasulli NM, Goldman WE., 2016. Pneumonia Plague: The Dark Side of *Yersinia pestis*. *Trends Microbiol.* 24:190–197.
- Peters J, Mac K, Wichmann-Schauer H, Klein G, Ellerbroek L., 2003. Species distribution and antibiotic resistance patterns of enterococci isolated from food of animal origin in Germany. *Int J Food Microbiol.* 88:311–314.
- Pham JN, Bell SM, Lanzarone JY., 1991. Biotype and antibiotic sensitivity of 100 clinical isolates of *Yersinia enterocolitica*. *J Antimicrob Chemother.* 28:13–18.
- Pham JN, Bell SM, Hardy MJ, Martin L, Guiyoule A, Carniel E., 1995. Susceptibility to beta-lactam agents of *Yersinia enterocolitica* biotype 4, serotype O3 isolated in various parts of the world. *J Med Microbiol.* 43:9–13.
- Pham NT, Thongprachum A, Tran DN, et al., 2016. Antibiotic resistance of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* Isolated from children with diarrhea in Thailand and Japan. *Jpn J Infect Dis.* 69:77–79.
- Poyart-Salmeron C, Carlier C, Trieu-Cuot P, Courtieu AL, Courvalin P., 1990. Transferable plasmid-mediated antibiotic resistance in *Listeria monocytogenes*. *Lancet.* 335(8703):1422–1426.
- Prats G, Mirelis B, Llovet T, Munoz C, Miro E, Navarro F., 2000. Antibiotic resistance trends in enteropathogenic bacteria isolated in 1985–1987 and 1995–1998 in Barcelona, *Antimicrob Agents Chemother.* 44:1140–1145.
- Prazak MA, Murano EA, Mercado I., 2002. Antimicrobial resistance and packaging seizures of *Listeria monocytogenes* isolated from various cabbage farms in Texas. *J Food Preser.* 65:1796-1799.
- Preston MA, Brown S, Borczyk AA, Riley G, Krishnan C., 1994. Antimicrobial susceptibility of pathogenic *Yersinia enterocolitica* isolated in Canada from 1972 to 1990, *Antimicrob Agent Chemother.* 38:2121–2124.
- Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard FC., 2004. *Veterinary Microbiology and Microbial Diseases*, Blackwell Publishing Professional, Iowa.
- Rakin A, Garzetti D, Bouabe H, Sprague LD., 2015. *Yersinia enterocolitica*. In: Tang YW, Sussman M, Liu D, Poxton I, Schwartzman J. Waltham, MA, ABD: San Diego, CA, ABD. 1319–1344.
- Ratnam S, March SB, Ahmed R, Bezanson GS, Kasatiya S., 1988. Characterization of *Escherichia coli* serotype O157:H7. *J Clin Microbiol.* 26:2006–2012.
- Requena L, Requena C., 2002. Erythema nodosum. *Dermatol. Online J.* 8:4.
- Riboldi GP, Frazzon J, Azevedo PA, Frazzon APG., 2009. Antimicrobial resistance profile of *Enterococcus* spp. isolated from food in Southern Brazil. *Braz J Microbiol.* 40:125–128.

- Riddle MS, Guerry P., 2016. Status of vaccine research and development for *Campylobacter jejuni*. *Vacc.* 34:2903–2906.
- Rothrock MJ, Davis ML, Locatelli A, Bodie A, McIntosh TG, Donaldson JR, Ricke SC., 2017. *Listeria* Formation in Poultry Flocks: Detection and Potential Effects. *Front Vet Sci.* 4:125.
- Roux F, Sproston E, Rotariu O, Macrae M, Sheppard SK, Bessell P, Smith PA, Cowden J, Maiden MC, Forbes KJ, Strachan NJ., 2013. Elucidating the aetiology of human *Campylobacter coli* infections. *PLOS ONE.* 8:e64504.
- Ryan CA, Tauxe RV, Hosesk GW, Wells JG, Stoesz PA, McFadden HW Jr, Smith PW, Wright GF, Blake PA., 1986. *Escherichia coli* O157:H7 diarrhea in a nursing home: Clinical, epidemiological, and pathological findings. *J Infect Dis.* 154:631–638.
- Sağun E, Ergün Ö., 1996. Gıdalarda *Yersinia enterocolitica* ve önemi YYÜ Vet Fak Derg. 7(1-2):117–120.
- Salmeron PS, Trieu CC, Carlier P, MacGowan C, McLauchlin A, Courvalin P., 1992. Genetic basis of tetracycline resistance in clinical isolates of *Listeria monocytogenes*. *Antimic Agent Chemother.* 36:463–466.
- Saran B., 2013. *Shigella* kökenlerinin antibiyotik direnç modelleri, plazmid profil analizi ve Pulsed-Field Jel elektroforezi ile incelenmesi *Mikrobiyol Bul.* 47(1): 35-4
- Sargeant JM, Amezcua MR, Rajic A, Waddell L., 2007. Pre-harvest interventions to reduce the shedding of *E. coli* O157 in the faeces of weaned domestic ruminants: A systematic review. *Zoonos Publ Health.* 54:260–277.
- Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ., 2011. Foodborne illness acquired in the United States major pathogens. *Emerg Infect Dis.* 17:7–15.
- Scallan E, Crim SM, Runkle A., 2015. Bacterial enteric infections among older adults in the United States: Foodborne diseases active surveillance network, 1996–2012. *Foodborne Pathog Dis.* 12:492–499.
- Schiaffino F, Colston JM., 2019. Paredes-Olortegui M. Antibiotic resistance of *Campylobacter* species in a pediatric cohort study. *Antimicrob Agents Chemother.* 63:11-18.
- Shin E, Oh Y, Kim M., 2013. Antimicrobial resistance patterns and corresponding multilocus sequence types of the *Campylobacter jejuni* isolates from human diarrheal samples. *Microb Drug Resist.* 19:110–116.
- Simona FO, Zervos MJ., 2007. *Enterococcus* and its Association with Foodborne Illnes Infectious Disease: Foodborne Diseases Book.
- Snedeker KG, Shaw DJ, Locking ME, Prescott RJ., 2009. Primary and secondary cases in *Escherichia coli* O157 outbreaks: A statistical analysis. *BMC Infect Dis.* 9:144.
- Solomon EB, Yaron S, Matthews KR., 2002. Transmission of *Escherichia coli* O157:H7 from contaminated manure and irrigation water to lettuce plant tissue and its subsequent internalization. *Appl Environ Microbiol.* 68:397–400.
- Sproston EL, Wimalarathna HML, Sheppard SK., 2018. Trends in fluoroquinolone resistance in *Campylobacter*. *Microb Genom.* 4:1–8.
- Stockdale AJ, Beeching NJ, Anson J, Beadsworth MB., 2016. Emergence of extensive fluoroquinolone resistance in *Campylobacter* gastroenteritis in Liverpool, UK. *J Infect.* 72:398–400.
- Sukhadeo BB, Trinad C., 2009. Molecular mechanisms of bacterial infection via the gut. *Cur Top Microbiol Immunol.* 337:173-195.
- Swerdlow DL, Woodruff BA, Brady RC, Griffin PM, Tippen S, Donnell Jr HD., 1992. A waterborne outbreak in Missouri of *Escherichia coli* O157:H7 associated with bloody diarrhea and death. *Ann Intern Med.* 117:812–819.

- Şanlıbaba P, Uymaz Tezel B ve Çakmak GA., 2018. Prevalence and Antibiotic Resistance of *Listeria monocytogenes* Isolated from Ready-to-Eat Foods in Turkey. J Food Qual. 7693782: 9.
- Tack DM, Marder EP, Griffin PM., 2019. Preliminary incidence and trends of infections with pathogens transmitted commonly through food - Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 U.S. Sites. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 68:369–373.
- Taylor LH, Latham SM, Woolhouse MEJ., 2001. Risk factors for human disease emergence. Philosophical Transactions of the Royal Society London B. 356:983–989.
- Teixeira LM, Facklam RR., 2003. *Enterococcus*. In: Manual of Clinical Microbiology (Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Tenover, M. C., and Tenover, H. C., eds.), 8th edn, ASM, Washington, DC. pp. 422–429.
- Terzi G, Gücükoğlu A, Çadirci Ö, Uyanık T, Alişarlı M., 2015. Samsun, Türkiye’de hazır gıdalardan izole edilen *Listeria monocytogenes*'in serotipleme ve antibiyotik duyarlılığı. Türk Veteriner ve Hayvan Bilimleri Dergisi. 39:211–217.
- Todd E, Notermans S., 2011. Surveillance of listeriosis and its causative pathogen, *Listeria monocytogenes*. Food Control. 22:1484–1490.
- Tonsor GT, Schroeder TC., 2015. Market Impacts of *E.coli* vaccination in US feedlot cattle Agric Food Econ. 3.
- Valenzuela AS, Omar NB, Abriouel H, Lopez RL, Veljovic K, Canamero MM, Topisirovic MKL, Galvez A., 2009. Virulence factors, antibiotic resistance, and bacteriocins in enterococci from artisan foods of animal origin. Food Control. 20:381–385.
- Vazquez-Boland JA, Kuhn M, Berche P, Chakraborty T, DomínguezBernal G, Goebel W, González-Zorn B, Wehland J, Kreft J., 2001. *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants. Clin. Microbiol. Rev. 14:584–640.
- Wegener HC., 2012. Antibiotic resistance-linking human and animal health. In Improving Food Safety Through a One Health Approach, ed. ER Choffnes, DA Relman, L Olsen, R Hutton, A Mack. Washington, DC: Natl. Acad. Press. pp. 331–49.
- Weese JS., 2010. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in animals. ILAR J. 51:233–244.
- Wieland B, Wittwer M, Regula G, Wassenaar TM, Burnens AP, Keller J, Stark KD., 2006. Phenon cluster analysis as a method to investigate epidemiological relatedness between sources of *Campylobacter jejuni*. J Appl Microbiol. 100:316–324.
- Woodward MJ, Breslin MF, Gettinby G, Corkish JD., 2002. The efficacy of Salenvac, a *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype *enteritidis* iron-restricted bacterin vaccine, in laying chickens. Avian Pathol. 31(4):383–92.
- World Organisation for Animal Health - Office International des Épizooties (OIE) Country information, Zoonoses. World Animal Health Information System. 2013.
- Yoke-Kqueen C, Learn-Han L, Noorzaleha AS, Son R, Sabrina S, Jiun-Horng S, Chai-Hoon K., 2008. Characterization of multiple-antimicrobial-resistant *Salmonella enterica* subsp. *enterica* isolated from indigenous vegetables and poultry in Malaysia. Lett Appl Microbiol. 46:318–324.
- Yücel N, Citak S, Önder M., 2005. Türkiye’de et ürünlerinde *Listeria* türlerinin prevalansı ve antibiyotik direnci. Gıda Mikrobiyolojisi. 22:241–245.

**ETLİK PİLİÇLERDE AYAK TABAN DERMATİTİ NEDEN OLUŞUR?  
WHY DOES FOOTPAD DERMATY OCCUR IN BROILER CHICKENS?**

**Ayşe UYSAL<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootekni AD, Erzurum, Türkiye.

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2803-2410>

**Ekrem LAÇIN<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootekni AD, Erzurum, Türkiye.

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8417-6710>

**Fatih YILDIRIM<sup>3</sup>**

<sup>3</sup>Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootekni AD, Erzurum, Türkiye.

<sup>3</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9402-4008>

**Murat GENÇ<sup>4</sup>**

<sup>4</sup>Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootekni AD, Erzurum, Türkiye.

<sup>4</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9565-0887>

**Uğur ÖZENTÜRK<sup>5</sup>**

<sup>5</sup>Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootekni AD, Erzurum, Türkiye.

<sup>5</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2037-9340>

**ÖZET**

Ayak taban dermatiti, bazı kanatlılarda ayağın plantar yüzeyinde nekrotik lezyonlara neden olan bir deri problemi olarak tanımlanmaktadır. Bu hastalık tavukların refahını ve performansını olumsuz yönde etkileyen ve genel olarak bir haftadan kısa bir sürede gelişen bir durum olarak gözlenmektedir. Hastalığa maruz kalan tavuklarda klinik olarak ayak tabanlarında hiperkeratoz, pul pul dökülme, şişlik ve ülserler gibi belirtiler görülmektedir. Ayak taban lezyonları, Avrupa ve Amerika'daki kanatlı üretim sistemlerinde refah değerlendirme kriteri olarak ortaya çıkmış ve günümüzde de hala refah belirleme kriteri olarak incelenmeye devam etmektedir. Ayrıca birçok ülkede tavuk ayağı sevilerek tüketilen bir gıda kaynağı olması sebebiyle ayak taban dermatiti, üretici açısından ekonomik kayıplara sebep olabilecek bir problem olarak nitelendirilmektedir. Bu nedenle ayak taban dermatiti, tavukların refahını ve verimini etkilediği kadar ekonomik olarak da üretici ve tüketiciyi etkileyen önemli bir konu olarak görülmektedir. Ayak taban dermatitinin sebebi genellikle multifaktöryeldir. Ancak altlığın nemi ayak taban dermatitinin oluşmasına zemin hazırlayan önemli faktörler arasında görülmektedir. Bunun yanında altlığın partikül büyüklüğü, derinliği, kümes içi iklimsel çevre, yetiştirme sistemi, suluk idaresi, yerleşim sıklığı, mevsim, yaş, canlı ağırlık, cinsiyet ve beslenme olmak üzere birçok çevresel faktör ve genetik yapı ayak taban dermatitinin oluşumuna sebep olmaktadır. Bu problem, otomatik teşhis yöntemleri ve skorlama ile teşhis edilebilmektedir. Ancak genel olarak ayak tabanında oluşan lezyonlar skorlama yöntemiyle derecelendirilmektedir. Bu skorlar ikiye, üçe veya dörde kadar yapılabilmektedir. Ayak taban dermatitinin oluşumunu azaltmak için ilk başta altlık yönetiminin iyi bir şekilde yapılması gerekmektedir. Bu sayede kanatlılarda ağrı ve acının azaltılmasına ve ekonomik kayıpların önlenmesine katkı sağlanmış olacaktır. Bahsedilen konuların ışığında bu derleme çalışmasında etlik piliçlerde görülen ayak taban dermatitinin önemi, sebepleri ve teşhis yöntemleri değerlendirilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** ayak taban dermatiti, etlik piliçler, ekonomi, performans, refah.

## ABSTRACT

Footpad dermatitis is defined as a skin problem that causes necrotic lesions on the plantar surface of the foot in some birds. This disease is observed as a condition that adversely affects the welfare and performance of chickens and generally develops in less than a week. Chickens exposed to the disease clinically show symptoms such as hyperkeratosis, exfoliation, swelling and ulcers on the soles of the feet. Footpad lesions have emerged as a welfare evaluation criterion in poultry production systems in Europe and America and are still being examined as welfare determination criteria today. In addition, due to the fact that chicken feet are a popular food source in many countries, footpad dermatitis is described as a problem that may cause economic losses for the producer. For this reason, foot dermatitis is seen as an important issue that affects the producers and consumers economically as well as affecting the welfare and productivity of chickens. The cause of footpad dermatitis is usually multifactorial. However, the moisture of the litter is seen among the important factors that pave the way for the formation of footpad dermatitis. In addition, many environmental factors and genetic structure such as particle size, depth, indoor climatic environment, breeding system, drinker management, settlement frequency, season, age, live weight, gender and nutrition cause the formation of footpad dermatitis. This problem can be diagnosed with self-diagnostic methods and scoring. However, lesions on the soles of the feet are generally graded using the scoring method. These scores can be made up to two, three or four. In order to reduce the formation of footpad dermatitis, first of all, good litter management should be done. In this way, it will contribute to the reduction of pain and suffering in poultry and to the prevention of economic losses. In the light of the aforementioned issues, the importance, causes and diagnostic methods of footpad dermatitis seen in broiler chickens were evaluated in this review study.

**Keywords:** footpad dermatitis, litter, broilers, economy, performance, welfare.

## GİRİŞ

Ayak taban dermatiti, ilk kez 1980'li yıllarda etlik piliçlerde bir deri problemi olarak değerlendirilmiştir. Etlik piliçlerde görülen bu durum multifaktöryel bir problem olmakla birlikte genellikle ıslak altlıktan kaynaklandığı belirtilmiştir. Ayak taban dermatiti (footpad dermatitis), pododermatitis, bumblefoot ve contact dermatitis olarak da bilinmektedir. Bu durum ayak taban derisinin yüzeyinden derin dokulara kadar ilerleyen enflamasyon ve nektorik lezyonlarla karakterizedir. Derin ülserler apselere ve ayak tabanında bulunan doku ve yapıların kalınlaşmasına sebep olmaktadır (Cengiz; Amer, 2020; Shepherd & Fairchild, 2010).

### 1. Ekonomik önemi

Ayak taban dermatiti, etlik piliçlerde yaygın bir deri problemi olarak bilinmektedir. Bu problemle karşı karşıya kalan etlik piliçlerde kısıtlı yem tüketimi sebebiyle canlı ağırlık kaybı görülmektedir. Etlik piliç kesimhanelerinde ayak taban dermatiti karkas kusuru olarak değerlendirilmektedir. Bunun yanında Hong Kong ve Çin gibi bazı ülkelerde insan tüketiminde önemli yere sahip olan ayaklarda herhangi bir lezyon olması ihracat işlemini kısıtlamaktadır (Amer, 2020). Son zamanlarda yüksek kaliteli tavuk ayaklarına olan taleplerin artması sebebiyle tavuk ayaklarında fiyat artışı gözlenmiştir. Ayak taban dermatiti, hayvanların refahını, ürün kalitesini ve gıda güvenliğini düşürmesi açısından önemli bir endişe kaynağı olarak görülmektedir (Shepherd & Fairchild, 2010).

### 2. Klinik belirti

Ayak taban dermatitine maruz kalan tavuklarda ağrı görülebilmektedir. Bu sebeple tavuklarda yem yeme azalarak canlı ağırlık artışı gerilemektedir (Shepherd & Fairchild, 2010; Gençoğlu & Gençoğlu, 2017). Ayrıca ayak tabanında lezyon olan etlik piliçlerde yürüme problemi (topallık) ve et kalitesinde düşüşler olmaktadır (Swiatkiewicz ve ark., 2017). Bunun yanında *Staphylococcus aureus* gibi bazı bakteriler bu lezyonlu bölgeden girerek bacaklarda zayıflamaya ve tüm vücutta enfeksiyona sebep olabilmektedir (Amer, 2020; Shepherd & Fairchild, 2010; Van den Oever ve ark., 2020).

### 3. Sebepleri

#### 3.1. Altlık materyali

Ayak taban dermatitinin oluşumuna zemin hazırlayan en önemli çevresel faktörün, altlık materyali olduğu bildirilmiştir. Altlık materyali, etlik piliçlerin civciv döneminden kesim yaşına kadar idaresi önemli olan bir malzemedir (Shepherd & Fairchild, 2010). Etlik piliç yetiştiriciliğinde sıklıkla kullanılan altlık materyalleri i talaş ve pirinç kavuzudur (Akyüz & Onbaşlar, 2021). Altlık; ısı yalıtımı, nemi çekme, zeminden koruma gibi önemli işlevlere sahiptir. Altlık malzemesinin nem çekme özelliği ne kadar iyi ise ayak taban dermatit oranları da o kadar düşük olmaktadır (Akyüz & Onbaşlar, 2021; Shepherd & Fairchild, 2010).

Etlik piliçler yaşamlarının büyük bir kısmını altlık üzerinde geçirmektedir. Altlık kalitesinde meydana gelen bir bozukluk ayaklarda ve dizlerde deformasyonlara sebep olmaktadır (De Jong ve ark., 2014). Saman ile çam talaşının ayak taban dermatitine etkisini araştırdığı bir çalışmada, çam talaşında lezyonların daha az olduğu tespit edilmiştir. ABD’de etlik piliç üretiminde en yaygın kullanılan altlık materyali çam talaşı iken; Avrupa’da saman daha yaygın kullanılmaktadır (Shepherd & Fairchild, 2010). Ağaç talaşı ve çeltik kılavuzunun altlık olarak kullanıldığı bir çalışmada, ağaç talaşında ayak lezyonlarının daha az görüldüğü tespit edilmiştir (Gençoğlan & Gençoğlan, 2017). Saman ile talaş altlıklarında ayak taban lezyonlarının görülme oranlarını inceleyen başka bir çalışmada, ikisi arasında bir fark bulunamamıştır (De Jong ve ark., 2014). Plastik zemin ve derin altlıklı sistemlerde refah değerlendirilmesi yapılmış ve plastik zeminde daha fazla ayak taban lezyonlarının oluştuğu tespit edilmiştir (Abdourhamane, 2019).

#### 3.2. Altlık nemi

Konu ile ilgili yapılan çoğu çalışmada ayak taban dermatitinin başlıca altlığın neminden etkilendiği vurgulanmıştır (Shepherd & Fairchild, 2010). Altlığın nem oranı ne kadar yüksek ise ayak taban dermatitinin görülme oranının o kadar yüksek olacağı belirtilmiştir (Bilgili ve ark., 2009; Taira ve ark., 2014; Yıldız ve ark., 2014). Etlik piliç yetiştiriciliğinde kullanılan altlığın nem oranı %30 ve daha fazla olması durumunda ayak taban dermatitlerinin oluşacağı bildirilmiştir (Cengiz ve ark., 2011). Altlığın nem içeriğinin artmasıyla yalnızca ayak taban dermatiti değil, aynı zamanda diz ve göğüs yaraları ve performansta gerileme gibi problemlerde oluşturabilmektedir (De Jong ve ark., 2014). Ayrıca altlık materyalindeki yüksek nem oranı altlıkta bulunan organik maddelerin çürümesini ve amonyakın ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. Ortaya çıkan bu amonyak ayak ve bacak derilerinde lezyonlara sebep olabilmektedir (Yıldız ve ark., 2014).

Bazı çalışmalarda altlık materyalinin kalitesini artırmak amacıyla zeolit gibi doğal maddeler karıştırılmıştır. Zeolitin, altlıkta bulunan nem ve amonyakı absorbe etme özelliğinden yararlanarak etlik piliçlerde ayak taban dermatit oranlarının azaltılacağı savunulmuştur (Akyüz & Onbaşlar, 2021).

Etlik piliçlerde ayak taban dermatiti oranını azaltmak için üretim dönemi boyunca altlık neminin %20-25 oranında; pH seviyesinin 8-10 arasında; amonyak miktarının 25 ppm düzeylerinde olması gerekmektedir (Gençoğlan & Gençoğlan, 2017).

#### 3.3. Altlık derinliği

Konu ile ilgili yapılan bir çalışmada altlık kalitesinin ayak taban dermatitini etkilemediği bunun yanında altlık derinliğinin etkilediği tespit edilmiştir. Altlık derinliği 5 cm’den az olan grupta 5 cm’den fazla olan gruba kıyasla daha az ayak taban lezyonlarının oluştuğu vurgulanmıştır (Shepherd & Fairchild, 2010). Konu ile ilgili yapılan bazı çalışmalarda altlık derinliğinin ayak taban dermatiti üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığını savunulmaktadır. Altlık olarak 1,0 kg veya 1,5 kg/m<sup>2</sup> saman ve talaşın kullanıldığı bir etlik piliç kümesinde ayak taban lezyonlarının görülme oranları bakımından fark olmadığı bulunmuştur. Fakat başka bir çalışmada ise 1,5 kg/m<sup>2</sup> samanın kullanıldığı grupta ayak taban lezyonlarının diğerine göre daha fazla görüldüğü belirtilmiştir (De Jong ve ark., 2014). Literatür bilgileri incelendiğinde altlık kalınlığı, kullanılan altlık materyalinin yapısına göre ortalama 2 ile 10 cm arasında olması istenmektedir (Gençoğlan & Gençoğlan, 2017). Konu ile ilgili yapılan başka bir çalışmada ise altlıktaki nem seviyesinin kontrol edilebilmesi için altlık derinliğinin en az 7,6 cm olması gerektiği bildirilmiştir (Akyüz & Onbaşlar, 2021).

### 3.4. Altlık boyutu

Altlık boyutunun ayak taban lezyonu üzerine etkisini incelemek amacıyla yürütülen farklı çalışmalarda, iri taneli altlıkta ince taneli altlığa kıyasla ayak taban lezyonlarının daha fazla görüldüğü tespit edilmiştir (Cengiz ve ark., 2011; Gençoğlan & Gençoğlan, 2017). Altlık partikül büyüklüğünün ayak taban lezyonlarının minimum düzeyde olması için 0.6 cm'yi geçmemesi gerekmektedir (Gençoğlan & Gençoğlan, 2017).

### 3.5. Yetiştirme sistemi

Konu ile ilgili yapılan bir çalışmada organik ve free range sistemlerinde ayak taban dermatitinin görülme oranının kapalı sistemlere göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Free range ve organik sistemler arasında kıyaslama yapıldığında ise organik sistemlerde bu problemin daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Pagazaurtundua & Warriss, 2006).

### 3.6. Kümes içi iklimsel çevre

Ayak taban dermatit oranları kümes içi sıcaklığın artırılmasıyla azaldığı tespit edilmiştir. Ancak kümes içi nem oranlarının artmasıyla ve havalandırma hızının azalmasıyla ise ayak taban dermatitlerinin arttığı görülmüştür. Ayrıca kümes içi uygulanan aydınlatma programlarının da ayak taban dermatitlerine etki edeceği düşünülmektedir. Ayak taban dermatitlerinin 5 lüks ışık yoğunluğunda yetiştirilen piliçlerde 20 lüks ışık yoğunluğunda yetiştirilen piliçlere kıyasla daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bunun sebebinin ise yüksek ışık yoğunluğunda piliçlerin daha hareketli olduğu ve böylece ayak taban dermatitlerinin görülme oranının azaldığı düşünülmüştür (Akyüz & Onbaşlar, 2021).

### 3.7. Yerleşim sıklığı

Etlik piliçlerde kümes içi yerleşim sıklığının artmasıyla altlık kalitesinin bozulduğu ve buna bağlı olarak da ayak taban lezyonlarının görülme oranlarının arttığı belirtilmiştir (Gençoğlan & Gençoğlan, 2017; Shepherd & Fairchild, 2010;). Ancak yerleşim sıklığı ayak taban dermatitine neden olabilecek temel faktör olarak görülmemektedir (Louton ve ark., 2022). Bazı literatür bildirişlerine göre etlik piliçlerde görülen ayak taban dermatit problemleri, hayvanların yetersiz hareket etmesiyle ilişkilendirilmiştir (Yıldız ve ark., 2014). Ayrıca Avrupa Birliği'nde 2007 yılında yürürlüğe giren mevzuatta, ticari etlik piliç yetiştiriciliğinde ayak taban dermatitlerinin görülme oranlarının azaltılması yerleşim sıklığı düzenlemesi ile gerçekleşeceğini ve etlik piliçler için en uygun yerleşim sıklığının 35 kg/m<sup>2</sup> olduğunu bildirilmiştir (Akyüz & Onbaşlar, 2021). 12 piliç/m<sup>2</sup> ve 20 piliç/m<sup>2</sup> iki farklı yerleşim sıklığında barındırılan etlik piliçlerde ayak taban dermatit görülme oranı en fazla yoğun yerleşim sıklığında olduğu tespit edilmiştir. Bu durum ise piliçlerin yetersiz hareketlerinden kaynaklanabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Yapılan çalışmalara göre düşük yerleşim sıklığında barındırılan piliçlerin daha fazla hareket ettiği ve ayak taban dermatit oranının daha az olduğu bildirilmiştir (Akyüz & Onbaşlar, 2021).

### 3.8. Mevsim

Ayak taban dermatitinin kış aylarında, yaz aylarına kıyasla daha fazla görüldüğü tespit edilmiştir. Bu durumun kış aylarında kümes içi nem düzeyinin artmasına bağlı olarak, altlığın nem düzeyinin de artmasından kaynaklandığı düşünülmüştür (Gençoğlan & Gençoğlan, 2017; Shepherd & Fairchild, 2010). Mevsimin kontakt dermatitlere (ayak taban yanığı, diz yanığı ve göğüs yanığı) etkisini araştıran bir çalışmada, %12,77 oranında sonbahar, kış ve ilkbahar mevsimlerinde ve %9,1 oranında ise yaz mevsimlerinde görüldüğü tespit edilmiştir (Akyüz & Onbaşlar, 2021).

### 3.9. Beslenme

Ayak taban lezyonları altlık ve beslenme olmak üzere iki ana faktörden etkilenmektedir. Gelişme döneminde olan civcivlerin yemlerindeki biyotin, sistin, metiyonin ve riboflavin gibi vitamin ve aminoasit eksikliklerine bağlı olarak ayak taban dermatitinin şekillendiği bildirilmiştir (Shepherd & Fairchild, 2010). Bunun yanında etlik piliçlerin su tüketimi altlığın nemliliğini ve dolaylı olarak da ayak taban dermatitinin oluşumunu doğrudan etkileyebilmektedir (Shepherd & Fairchild, 2010; Swiatkiewicz ve ark., 2017). Rasyonlarda yüksek oranda Na ve K kullanılması su tüketimini artırmaktadır. Bu durum da altlığın ıslanmasına ve ayak taban dermatit problemlerinin artmasında sebep olmaktadır. Bunun yanında nipple sulukların askılı suluklara kıyasla altlık materyalini daha az ıslattığı tespit edilmiştir (Akyüz & Onbaşlar, 2021).

### 3.10. Cinsiyet, Canlı ağırlık, Yaş ve Genetik

Yapılan araştırmalara göre erkek etlik piliçlerin dişi etlik piliçlere kıyasla daha fazla ayak lezyonları ile karşılaştığı tespit edilmiştir. Bu artış erkek etlik piliçlerin canlı ağırlığı ile ilişkilendirilmiştir. Canlı ağırlık bakımından daha ağır olan erkek grubunda, dişilere göre ayak tabanına daha fazla basınç uygulandığı ve dolayısıyla ayak taban lezyonlarının da arttığı bildirilmiştir (Shepherd & Fairchild, 2010). Fakat bazı çalışmalarda canlı ağırlık ile ayak taban lezyonları arasında bir ilişki olmadığı savunulmuştur (Kjaer ve ark., 2006). Ayrıca ayak taban lezyonlarının yoğun olarak dişilerde ortaya çıktığını tespit eden bir çalışma bir önceki çalışma ile çelişki içerisindedir ( $P < 0,05$ ). Genel olarak konu ile ilgili çalışmalar incelendiğinde ayak taban lezyonlarının ağırlıklı olarak erkeklerde görüldüğü; fakat bazı çalışmalarda ise bu lezyonların görülme sıklığının cinsiyete göre değişmediği belirlenmiştir (Kjaer ve ark., 2006; Mayne, 2005). Konu ile ilgili yapılan bir çalışmada, ayak taban lezyonlarının 7. günlükken başladığı ve yaşla birlikte de bu lezyonların arttığı tespit edilmiştir (Hashimoto ve ark., 2011). Yavaş büyüyen ve hızlı büyüyen etlik piliçlerde ayak taban dermatiti incelenmiş ve yavaş büyüyen genotiplerde herhangi bir lezyon olmadığı; fakat hızlı büyüyen genotiplerde 2. haftadan itibaren lezyonların görülmeye başladığı tespit edilmiştir (Kjaer ve ark., 2006; Swiatkiewicz ve ark., 2017). Hızlı büyüyen (White turkey) ve yavaş büyüyen (Bronze turkey) hindilerde ayak taban dermatitinin oluşma derecesi karşılaştırıldığında hızlı büyüyenlerde hem canlı ağırlığın daha fazla görüldüğü hem de ayak taban dermatitinin daha yoğun görüldüğü tespit edilmiştir (Mayne, 2005). Konu ile ilgili yapılan başka bir bilimsel çalışmada, hızlı büyüyen etlik piliçlerde canlı ağırlık artışı sebebiyle yürüme davranışında bozuklukların olduğu ve bu durumunun ise ayak taban lezyonlarının arttırdığı belirtilmiştir (Akyüz & Onbaşlar, 2021).

#### 4. Ayak taban dermatitinin ölçümü

Ayak taban dermatitlerinin değerlendirilmesi genellikle kesimhanelerde yapılmaktadır (Akyüz & Onbaşlar, 2021). Özellikle ayak taban kontrolleri, tavuk ayağını bir besin olarak tüketen ülkeler açısından büyük önem taşımaktadır (Akyüz & Onbaşlar, 2021). Etlik piliçlerin refah değerlendirmesinde ayak taban lezyonları bakımından skorlama yapılmaktadır (Hocking ve ark., 2008). İkili skorlamada lezyon var ya da yok; üçlü skorlamada lezyonlar şiddetine göre değerlendirilmektedir (Akyüz & Onbaşlar, 2021). Dörtlü skorlama işlemi de lezyonun şiddetine göre numaralandırma yapılmaktadır. Örneğin 0; hiçbir lezyonun olmadığını, 1; ayak tabanının orta kısmının normal deriye göre daha sert bir yapıda olduğunu, 2; ayak tabanında belirgin bir şişlik ve hafif lezyon olduğunu, 3; ayak tabanında belli olan bir şişlik ve ayak tabanının yarısına kadar lezyon olduğunu, 4; ayak tabanının yarısından fazlasının lezyonla kaplı olduğunu göstermektedir (Hocking ve ark., 2008).



Skor 0

Skor 1

Skor 2

Skor 3

Skor 4

**Şekil.1.** Ayak taban dermatitinin skorlanması (Hashimoto ve ark., 2011).

Son yıllarda hayvanlara dokunmadan ve onları strese sokmadan otomatik refah ölçüm teknikleri geliştirilmiştir. Bu teknikler, etlik piliçlerde sadece refah ölçümü için değil ayrıca büyüme ve gelişme gibi performans özelliklerinin tespiti için de kullanılmaktadır. Etlik piliç refah değerlendirmesinde kullanılan transekt yönteminde (i-WatchBroiler ve i-WatchTurkey) hayvanların suluk ve yemlik etrafında yürüme davranışları kaydedilmektedir. Bu yöntem refah değerlendirmesinde ve ekonomik kayıpların azaltılması açısından önemli bir uygulama olarak görülmektedir (Akyüz & Onbaşlar, 2021).



**SONUÇ**

Ayak taban dermatiti etlik piliçlerde önemli bir refah problemi olarak değerlendirilmektedir. Bu problem, altlık materyalinin yapısı, nemi, derinliği, partikül büyüklüğü, mevsim, kümes içi iklimsel koşullar, beslenme, yaş ve canlı ağırlık gibi çevresel faktörlerden ve genotipten etkilenmektedir. Bu faktörler arasında altlığın nemi ayak taban dermatitlerinin oluşmasında önemli bir role sahiptir. Bu nedenle etlik piliçlerde ayak taban dermatitlerinin önüne geçilmesinde altlık yönetiminin ve beslenme programlarının iyi bir şekilde ayarlanması gerekmektedir. Bunun yanında kümes içi iklimsel koşullar etlik piliçlerin termal konfor bölgelerine göre ayarlanması ayak taban dermatitlerinin oluşmasını azaltacaktır.

**KAYNAKLAR**

1. Shepherd, E. M., & Fairchild, B. D. (2010). Footpad dermatitis in poultry. *Poultry science*, 89(10), 2043-2051.
2. Gençoğlan, S., & vand Gençoğlan, C. (2017). The effect of the litter materials on broiler chickens welfare and performance. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 5(12), 1660-1667.
3. Hocking, P. M., Mayne, R. K., Else, R.W., French, N.A., & Gatcliffe, J. (2008). Standard European footpad dermatitis scoring system for use in turkey processing plants. *World's Poultry Science Journal*, 64(3), 323-328.
4. Pagazaurtundua, A., & Warriss, P. D. (2006). Levels of foot pad dermatitis in broiler chickens reared in 5 different systems. *British Poultry Science*, 47(5), 529-532.
5. Taira, K., Nagai, T., Obi, T., & Takase, K. (2014). Effect of litter moisture on the development of footpad dermatitis in broiler chickens. *Journal of Veterinary Medical Science*, 76(4), 583-586.
6. Bilgili, S. F., Hess, J. B., Blake, J. P., Macklin, K. S., Saenmahayak, B., & Sibley, J. L. (2009). Influence of bedding material on footpad dermatitis in broiler chickens. *Journal of Applied Poultry Research*, 18(3), 583-589.
7. Hashimoto, S., Yamazaki, K., Obi, T., & Takase, K. (2011). Footpad dermatitis in broiler chickens in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, 73(3), 293-297.
8. Kjaer, J. B., Su, G., Nielsen, B. L., & Sørensen, P. (2006). Foot pad dermatitis and hock burn in broiler chickens and degree of inheritance. *Poultry science*, 85(8), 1342-1348.
9. Swiatkiewicz, S., Arczewska-Wlosek, A., & Jozefiak, D. (2017). The nutrition of poultry as a factor affecting litter quality and foot pad dermatitis—an updated review. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 101(5), 14-20.
10. Cengiz, Ö., Hess, J. B., & Bilgili, S. F. (2011). Effect of bedding type and transient wetness on footpad dermatitis in broiler chickens. *Journal of Applied Poultry Research*, 20(4), 554-560.
11. Mayne, R. K. (2005). A review of the aetiology and possible causative factors of foot pad dermatitis in growing turkeys and broilers. *World's Poultry Science Journal*, 61(2), 256-267.
12. De Jong, I. C., Gunnink, H., & Van Harn, J. (2014). Wet litter not only induces footpad dermatitis but also reduces overall welfare, technical performance, and carcass yield in broiler chickens. *Journal of Applied Poultry Research*, 23(1), 51-58.
13. Abdourhamane, İ. M. (2019). Serbest dolaşım (free range) barındırma sistemi ve yavaş gelişen etlik piliç genotiplerinin büyüme performansı, hayvan refahı ve davranışları ile ayak sağlığı ve ekonomik verimlilik üzerine etkileri (Doctoral dissertation, Bursa Uludağ University (Turkey)).
14. Louton, H., Bergmann, S., Piller, A., Erhard, M., Stracke, J., Spindler, B., & Schwarzer, A. (2022). Automatic scoring system for monitoring foot pad dermatitis in broilers. *Agriculture*, 12(2), 221.
15. Van den Oever, A. C., Bolhuis, J. E., van de Ven, L. J., Kemp, B., & Rodenburg, T. B. (2020). High levels of contact dermatitis and decreased mobility in broiler breeders, but neither have a relationship with floor eggs. *Poultry science*, 99(7), 3355-3362.

16. Amer, M. M. (2020). Footpad dermatitis (FPD) in chickens. *The Korean Journal of Food & Health Convergence*, 6(4), 11-16.
17. Yıldız, A., YILDIZ, K., & Apaydin, B. (2014). The effect of vermiculite as litter material on some health and stress parameters in broilers. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 20(1), 6.
18. Akyüz, H. Ç., & Onbaşılar, E. E. (2021). Kanatlılarda kontakt dermatit. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 92(2), 188-197.

**KOYUNCULUKTA ALTLIK KULLANIMI ÖNEMLİ MİDİR?  
IS IT IMPORTANT TO USE MATTRESS IN SHEEP?**

*Ayşe UYSAL<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootekni AD, Erzurum, Türkiye.*

<sup>1</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2803-2410>*

*Ekrem LAÇİN<sup>2</sup>*

<sup>2</sup>*Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootekni AD, Erzurum, Türkiye.*

<sup>2</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8417-6710>*

*Şermin TOP<sup>3</sup>*

<sup>3</sup>*Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları AD, Erzurum, Türkiye.*

<sup>3</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2684-7798>*

*Emre YILMAZ<sup>4</sup>*

<sup>4</sup>*Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları AD, Erzurum, Türkiye.*

<sup>4</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1004-6531>*

*Soner UYSAL<sup>5</sup>*

<sup>5</sup>*Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları AD, Erzurum, Türkiye.*

<sup>5</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0372-9895>*

**ÖZET**

Türkiye, koyun varlığı bakımından Dünyada önde gelen ülkeler arasında yer almaktadır. Dünya genelinde koyun yetiştiriciliği daha çok ekstansif sistemlerde ve geleneksel olarak yapılmaktadır. Ancak son yıllarda hem meraların yetersizliğine bağlı olarak hem de yüksek verimli koyunların fizyolojik ihtiyaçlarının daha iyi karşılanabilmesi için entansif yetiştirme sistemlerine yönelim artış göstermiştir. Her iki yetiştirme sisteminde de sürdürülebilir bir koyun yetiştiriciliği için sürü yönetim stratejilerinin optimum bakım, besleme ve refah konularını içermesi gerekmektedir. Entansif koyun yetiştiriciliğinde ağıllar, koyunlardan istenilen verimin alınabilmesi için koyunların biyolojisine ve refahına uygun bir şekilde tasarlanmalıdır. Koyunların barınak içerisinde beş temel özgürlüğünü rahat bir şekilde gerçekleştirebilmeleri gerekmektedir. Entansif koyunculukta refah değerlendirme kriterlerinden biri altlık kalitesi olarak bilinmektedir. Genellikle koyunculuk işletmelerinde altlık materyali olarak saman, kuru ot, toprak ve kauçuk gibi materyaller ile ızgaralı sistemler tercih edilmektedir. Bu altlık materyallerinin kullanım yoğunluğu üreticiler açısından ve bölgelere göre farklılık göstermektedir. Altlık, koyunları zeminin olumsuz koşullarından koruyan ve koyunlara yeterli dinlenme fırsatı sunan çevresel bir faktör olarak değerlendirilmektedir. Altlık, koyunların yatma ve yürüme gibi günlük davranışları ile ayak, bacak ve meme sağlığını etkileyen önemli bir faktördür. Kalitesiz altlıkların kullanıldığı ağıllarda barındırılan koyunların yeterli düzeyde dinlenememesi sebebiyle strese maruz kaldığı görülmüştür. Ayrıca ayak ve bacak problemleri ile süt verimlerinde ve kalitesinde gerileme görülmüştür. Bunun yanında koyunların kirlilik skorlarında artış olmuştur. Bu bilgilere ek olarak özellikle kış aylarında altlığın nem düzeyindeki artış ortam gazlarındaki artışa ve solunum problemlerine neden olmaktadır. Bu nedenle altlık kullanımı diğer çiftlik hayvanlarında olduğu gibi entansif koyun yetiştiriciliğinde de önemli bir yere sahiptir. Bu derleme çalışmasında, ağıllarda kullanılan altlık materyal çeşitleri ile altlık materyalinin verime, sağlığa ve refaha etkileri değerlendirilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** altlık, ağıl, koyun, refah, sağlık.

## ABSTRACT

Turkey is among the leading countries in the world in terms of sheep presence. Sheep breeding is done in extensive systems and traditionally around the world. However, in recent years, the tendency towards intensive rearing systems has increased both due to the insufficiency of pastures and in order to better meet the physiological needs of high-yielding sheep. In both breeding systems, herd management strategies should include optimum care, feeding and welfare issues for a sustainable sheep breeding. In intensive sheep breeding, the sheep shelter should be designed in accordance with the biology and welfare of the sheep in order to obtain the desired yield from the sheep. Sheep should be able to comfortably realize their five basic freedoms in the shelter. One of the welfare evaluation criteria in intensive sheep breeding is known as litter quality. Generally, materials such as straw, hay, soil and rubber and grid systems are preferred as litter material in sheep farms. The intensity of use of these litter materials varies according to the producers and regions. Litter is considered as an environmental factor that protects the sheep from the adverse conditions of the ground and provides adequate resting opportunities for the sheep. Litter is an important factor affecting the daily behavior of sheep such as lying and walking, and foot, leg and udder health. It has been observed that the sheep housed in the barns where poor quality litter is used are exposed to stress due to insufficient rest. In addition, foot and leg problems and a decline in milk yield and quality were observed. In addition, there was an increase in the pollution scores of sheep. In addition to this information, the increase in the humidity level of the litter, especially in the winter months, causes an increase in the ambient gases and respiratory problems. For this reason, the use of litter has an important place in intensive sheep breeding as in other farm animals. In this review study, the types of litter materials used in the sheep shelter and the effects of litter material on yield, health and welfare were evaluated.

**Keywords:** litter, sheep shelter, sheep, welfare, health.

## GİRİŞ

Çiftlik hayvanlarından istenilen verimi alabilmek ve sağlıklarını koruyabilmek için barınak sistemleri hayvanların refahına ve biyolojine uygun bir şekilde tasarlanmalıdır. Türkiye’de küçükbaş hayvan yetiştiriciliği genel olarak meraya dayalı (ekstansif) bir şekilde yapılmaktadır. Ancak son yıllarda hem meraların yetersizliğine bağlı olarak hem de üstün verimli hayvanların fizyolojik ihtiyacını karşılayabilmek adına koyunculüğün daha çok entansif ve yarı entansif sistemlere yöneldiği görülmüştür (Öztürk & Tölu, 2016). Bunun yanında koyunculuk sektörü yüksek yatırım gerektirmeyen bir sektör olarak bilinmektedir (Paksoy ve ark., 2006). Türkiye’de genel olarak koyun ağılları planlanırken yapı maliyetinin düşüklüğü göz önünde bulundurulurken çevre koşulları çok fazla dikkate alınmamaktadır. Bu durumda genetik özellikleri iyi olan koyunlar verimlerini gösterememekte ve hatta verim özelliklerinde gerileme olmaktadır. Bu nedenle barınaklar, tüm hayvan türlerine göre optimum koşulları sağlayacak şekilde dizayn edilmesi gerekmektedir (Günel, 2006).

Koyunculuk işletmelerinde, koyunları havanın olumsuz şartlarından koruyan, yeterli havalandırma imkânı sunan ve kuru zeminli bir barınağın kurulması oldukça önem taşımaktadır. Ilıman bölgelerde yapılan koyunculuk daha çok basit sundurma altında; soğuk bölgelerde ise kapalı ağıllarda yapılmaktadır (Paksoy ark., 2006). Özellikle kış aylarında kapalı barınaklarda kullanılan altlığın kalitesi, koyunların refahı ve sağlığı için büyük öneme sahiptir (Karaman ark., 2012). Entansif koyunculuk işletmelerinde altlıklı sistemlerin yanında ızgaralı sistemler de tercih edilmektedir. Altlıklı zemin daha çok sera tipi ağıllarda tercih edilirken; ızgaralı taban ise daha yaygın olarak gelişmiş işletmelerde kullanılmaktadır. Altlık materyali, zemini kuru tutarak hayvanların dinlenme süresinin arttırarak, tırnak, ayak ve meme hastalıklarının azalmasını sağlamaktadır (Altınçekiç, 2014).

### Ağıllarda tercih edilen altlık çeşitleri

Genel olarak koyunculuk işletmelerinde altlık yapı malzemesi olarak saman ve kuru ot kullanımının daha yaygın olduğu bildirilmiştir (Onuk, 2015). Saman ve kuru ot dışında koyunculukta kullanılan toprak altlık gibi çeşitli altlık materyalleri mevcuttur. Karaman ve ark 2012 yaptıkları bir çalışmada toprak altlığın diğer altlık malzemelerine kıyasla daha ucuz olması bakımından kullanımının daha fazla olduğunu belirtmişlerdir (Karaman ve ark., 2012).

Koyunculukta bölgelere göre altlık kullanımı farklılık göstermektedir. Konu ile ilgili yapılan bir çalışmada Çanakkale ilinde koyun ağıllarında altlık kullanılmadığı belirtilmiştir. Bunun yanında işletmenin büyüklüğüne göre de altlık kullanımı farklılık göstermektedir. Genel olarak küçük, orta ve büyük ölçekli işletmelerde altlık kullanımı sırasıyla %58,62, %71,87 ve %76,32 olduğu belirtilmiştir. Altlık olarak ise hem ucuz hem de bulunmasının kolay olması bakımından sap ve saman daha çok tercih edilmiştir (Altınçekiç, 2014). Aksaray ilinde yapılan bir çalışmada ağıllarının tabanının genellikle toprak olduğu ve %31,61 oranında saman; %36,77 oranında kuru gübre tercih edildiği tespit edilmiştir (Özgen, 2014). Bazı işletme sahipleri, hem sıcak ortam için hem de yumuşak bir zemin oluşumu için sonbaharda başlayıp ilkbahara kadar gübre ve altlığı barınak içinde tutmaktadır (Akdeniz, 2021). Yetiştiriciler, özellikle kış aylarında toprak zeminde oluşan gübreyi sıyırmadıklarını ve kış boyu ağılda tuttuklarını dile getirmişlerdir. Yaz aylarında ise koyunların meraya çıkmasıyla da gübreleri uzaklaştırdıklarını ifade etmişlerdir (Sabri ve ark., 2022). Genel olarak incelendiğinde koyun ağıllarında tercih edilen diğer bir sistem ise çıta veya ızgaralı sistem olduğu görülmüştür. Bu sistemler işçilik ve altlık giderlerinin önüne geçmek amacıyla daha çok tercih edilmektedir. Ayrıca çitallı zeminler daha fazla stoklama yoğunluğuna imkân sağladığı düşünülmektedir. Bunun yanında saman altlıklar, hayvanlara konfor sağlaması, kuru zemin ve ısı düzenleyici özelliği sayesinde kullanılmaktadır (Jaborek ve ark., 2016). Kauçuk, tahta ve ızgara zeminlerin kullanıldığı bir ağılda, koyunlar yatmak için kauçuk zemini %72 oranında ızgaralı zeminden daha fazla tercih ettiği belirtilmiştir. Ayrıca ızgaralı zeminde koyunların daha fazla ayakta kaldığı görülmüştür ( $p<0.05$ ). Bu nedenle kauçuk zeminlerin koyun ağıllarında kullanılabilir alternatif bir altlık materyali olarak nitelendirilebilir (Öztürk & Tölü, 2016).

### Altlık kalitesinin ölçümü

Bazı koyunculuk işletmelerinde, yoğun yerleşim sıklığı düzeni uygulanmaktadır. Yerleşim sıklığı ile altlık kalitesi arasında negatif bir ilişki olduğu; yerleşim sıklığının artmasıyla altlığın nem yoğunluğunun arttığı ve kalitesinin düştüğü belirtilmiştir. Bu nedenle barınak içinde metrekareye düşen hayvan sayısının iyi bir şekilde ayarlanması gerekmektedir (Çağrıbay & Şengül, 2013). Altlık kalitesini etkileyen iki önemli faktör nem ve gübre olarak bilinmektedir (Moura ve ark., 2010).

Altlık kalitesi, altlıkta bulunan nem oranı ve amonyak düzeyi hesaplanarak belirlenmektedir. Kalite değerlendirmenin yapılabilmesi için altlığın üç farklı bölgesinden örnek alınmaktadır. Altlıktaki nem düzeyi (%);  $(m_2 - m_3 / m_2 - m_1) * 100$  formülünden hesaplanmaktadır ( $m_1$ : kurutulan boş kurutma kabı ağırlığı (g),  $m_2$ : altlık örneğinin ilk ağırlığı + kurutma kabı ağırlığı (g),  $m_3$ : altlık örneği bulunan kurutma kabının kurutma işlemi sonrası son ağırlığı (g)). Amonyak ölçümü ise, amonyak ölçüm cihazlarıyla altlığın farklı bölgelerinde ölçüm yapılarak hesaplanmaktadır (Akdeniz, 2021).

Altlık kalitesinin değerlendirilmesinin bir diğer yolu ise skorlama işlemidir. Koyunların refahını değerlendirmek için altlıkta skorlama işlemi yapılmaktadır. Skorlamada 1; kuru ve temiz altlığı, 2; hafif nemli altlığı, 3; ıslak veya ayağa bulaşacak düzeyde çamur altlığı, 4; çok ıslak ve sıvı çamur altlığı ifade etmektedir (Ayağ, 2014).



Şekil.1. Ağılda altlık skorlaması (Ayağ, B. S. 2014).

### **Altlığın davranışa etkisi**

Altlık malzemesi hayvanların davranışını ve büyüme performansını etkileyebilmektedir. Altlık kalitesinin iyileştirilmesi gibi çevresel zenginleştirme, koyunlarda yün yeme gibi stereotipik davranışların azalmasını sağlamaktadır (Jaborek ve ark., 2016). Konu ile ilgili yapılan bir çalışmada gebe koyunlar metal ve saman altlıklı zeminde barındırılmıştır. Hayvanların gün içerisinde yaptığı davranışlar incelendiğinde iki altlık arasında bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Bunun yanında dinlenme olarak incelendiğinde ise; gebe koyunlar metal zemine kıyasla saman altlıkta daha fazla yatarak zaman geçirdiği tespit edilmiştir (Vik ve ark., 2017). İneklerde yapılan bir çalışmada altlık serili duraklarda koyunlarda olduğu gibi ineklerin de daha fazla zaman geçirdiği ve refahlarının daha iyi olduğu bulunmuştur (Özdemir & Singin 2016).

### **Altlığın verim ve sağlığa etkisi**

Altlığın kalitesi, diğer çiftlik hayvanlarında olduğu gibi koyunlarda da hem refah hem de sağlık açısından önemli bir yere sahiptir. Koyunlarda yapılan bir çalışmada, barınaklarda uygun olmayan (kalitesiz) altlığın kullanılması süt kalitesini düşürdüğü tespit edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada kalitesiz altlıkların büyüme hormonunun salınımını da azaltarak süt verimini de azalttığı ifade edilmektedir. Bunun yanında koyunlarda dinlenme süresinin azalması ile çeşitli ayak hastalıkları ve topallık problemi ortaya çıktığı tespit edilmiştir (Akdeniz, 2021). Bunun yanında altlıkta biriken amonyağın ayak taban hastalıklarının oluşumuna zemin hazırladığı belirtilmiştir (Çağrıbay & Şengül, 2013). Sağlık ile altlık arasındaki ilişkiyi araştıran başka bir çalışmada, ağıl koşullarının optimum olmadığı ve zemin ile dışkı arasında 20 cm'lik bir mesafenin olması ayak hastalıkları oranını artırdığı belirtilmiştir (Özgen, 2014).

Çiftlik hayvanlarından istenilen verimin alınabilmesi için optimum çevre koşullu bir barınakta yetiştirilmesi gerekmektedir. Barınak içinde ortam gazlarının artması koyunlarda yem tüketimini azalttığı, solunum problemlerinin olduğu ve stres durumlarının görüldüğü tespit edilmiştir (Akdeniz, 2021). Altlık kalitesinin iyileştirmesi ile koyun ağıllarındaki yetersiz havalandırma sonucu oluşan hastalıkların önüne geçilebilmektedir. Altlık kalitesi iyileştirilen bir çalışmada, kuzularda solunum sistemi hastalıklarının daha az olduğu ve süt kalitesinin de arttığı tespit edilmiştir (Sevi ve ark., 2003).

Altlığın sağlık ve verim açısından önemli olduğunu vurgulayan bazı çalışmalarda, altlığın kalitesinin artırılması yönünde incelemeler yapmışlardır. Örneğin; konu ile ilgili yapılan bir çalışmada altlığın pH değeri, altlığa karıştırılan sodyum bisülfat kompleksi ile düşürülerek altlığın amonyak değerinin azaldığı tespit edilmiştir. Bunun yanında pH değerinin düşmesiyle bakteri ve enzim aktivitesinin azaldığı dolayısıyla amonyak oluşumunun da minimum seviyelere düştüğü düşünülmüştür (Toppel ve ark., 2019). Ayrıca barınaklarda oluşan hastalıklarının sebebinin sadece altlık olmadığı ve barınak içinde oluşan toz partiküllerinin de hastalıklara sebep olabileceği belirtilmiştir. Hastalığın oluşmasında transport görevi üstlenen toz partiküllerinin %57-76'sının oluşumunda dışkının ve altlığın sorumlu olduğu belirtilmiştir. Bu nedenle altlığın kalitesinin barınak içi toz partiküllerinin oluşumu açısından önemli bir yeri bulunmaktadır (Caroprese, 2008). Altlık kalitesinin artırılması yönünde yapılan bir çalışma örneği ise bentonit ile ilgilidir. Bentonit, altlıkta bulunan mikrobiyel aktiviteyi azaltarak hastalık riskinin azaltılabileceği bildirilmektedir. Altlığın 0,5 kg/m<sup>2</sup> oranında bentonitle işlenmesi sütün hijyenik özelliğinin de artabileceği düşünülmektedir. Ayrıca altlığın ayda bir olmak üzere yenilenmesi, ortam hava kalitesini arttırdığı, sütteki somatik hücre sayısını, mezofil ve koliform konsantrasyonunu azaltabilmektedir (Caroprese, 2008).

### **Altlık ile yerleşim sıklığı arasındaki ilişki**

Altlık kalitesi ile yerleşim sıklığı yakından ilişkili iki önemli konu olarak bilinmektedir (Sevi ve ark., 2009). Yerleşim sıklığının artmasıyla, altlık kalitesinin bozulduğu, bacak problemlerinin ve ölüm oranının arttığı belirtilmiştir (Moura ve ark., 2010). Saman altlıkta 0,9-1,2 m<sup>2</sup>/baş, çıtalı veya ızgaralı zeminde ise 0,8-1 m<sup>2</sup>/baş koyun barındırılması sağlık ve refah açısından uygun görülmektedir. Koyunlarda stoklama yoğunluğu arttıkça hayvan refahı ve verimdeki olumsuzlukları elemine etmek için dikkatli altlık yönetimi esastır. Bu nedenle altlıkta oluşan yoğun amonyağın ve altlıkta veya havada mikroorganizma üremesinin azalması ve hava kalitesinin artırılması, altlığa bentonit ve paraformaldehit ilavesi ile gerçekleşeceği tespit edilmiştir (Sevi ve ark., 2009). Norveç'te metal zeminde koyunlar, 0,75 ile 0,90 m<sup>2</sup>/koyun yerleşim sıklığında barındırılmaktadır. Avrupa mevzuatına göre organik üretimde sağlam bir altlıkta koyunlar için dinlenme alanı 1,50 m<sup>2</sup>/koyun olarak belirlenmiştir (Vik ve ark., 2017).

**SONUÇ**

Diğer çiftlik hayvanlarında olduğu gibi entansif koyunculukta da altlık kullanımı önemli bir yere sahiptir. Altlık kalitesi hayvanların refahlarına, verimlerine ve sağlıklarına etki eden önemli bir çevresel faktördür. Altlık kalitesinin iyileştirilmesi ile ayak, bacak ve meme hastalıklarının önüne geçilmektedir. Bunun yanında altlık kalitesinin iyileştirilmesi ile süt kalitesi ve miktarı da artırılabilir. Bu nedenle altlığın hijyeni, nemi, kalitesi ve yapısı gibi özellikler koyun barınaklarında önemli bir çevresel faktör olarak görülmektedir. Ancak koyunculuk sektöründe altlığın meme sağlığını, süt kalitesini, koyunların büyüme-gelişmesini ve refahını nasıl etkilediği ile ilgili yeterli düzeyde bilimsel çalışma bulunmaktadır. Bu nedenle konu ile ilgili daha fazla çalışma yapılması gerektiği kanısına varılmıştır.

**KAYNAKLAR**

1. Öztürk, S., & Cemil, T. Ö. L. Ü. (2016). Keçi ve koyunlarda tahta, kauçuk ve ızgara zemin tercihi. *Hayvansal Üretim*, 57(2), 28-34.
2. Günal, İ. K. R. (2006). Tekirdağ ili merkez ilçeye bağlı köylerde bulunan koyun ağıllarının yapısal özelliklerinin belirlenmesi ve geliştirilebilir olanaklarının araştırılması. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 4(3), 339-346.
3. Paksoy, S., Atılğan, A., Akyüz, A., & Kumova, Y. (2006). Kahramanmaraş yöresi koyunculuk işletmelerinin yapısal yönden mevcut durumları ve geliştirilmesi üzerine bir araştırma. *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 1(2), 17-27.
4. Karaman, S. Ulutaş, Z. Şirin, E. & Aksoy, Y. (2012). Tokat yöresindeki ağılların yapısal ve çevre koşulları yönünden durumu ve geliştirme olanakları üzerine bir araştırma. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2012(2), 29-41.
5. Onuk, A. (2015). İklim denetimli sera tipi koyun-keçi barınaklarının Bursa bölgesinde uygulanma olanakları (Master's thesis, Uludağ Üniversitesi).
6. Caroprese, M. (2008). Sheep housing and welfare. *Small ruminant research*, 76(1-2), 21-25.
7. Sevi, A., Albenzio, M., Muscio, A., Casamassima, D., & Centoducati, P. (2003). Effects of litter management on airborne particulates in sheep houses and on the yield and quality of ewe milk. *Livestock Production Science*, 81(1), 1-9.
8. Sevi, A., Casamassima, D., Pulina, G., & Pazzona, A. (2009). Factors of welfare reduction in dairy sheep and goats. *Italian Journal of Animal Science*, 8(sup1), 81-101.
9. Sabri, G. Ü. L., Oflaz, N., Keskin, M., & Behrem, S. (2022). Aksaray İlinde Koyun Yetiştiriciliğinin Yapısal Özellikleri. *Erciyes Tarım ve Hayvan Bilimleri Dergisi*, 5(2), 1-11.
10. Özgen, E. K. (2014). Erzurum yöresi koyunlarında görülen ayak hastalıklarının prevalansı (Master's thesis, Kırıkkale Üniversitesi).
11. Altınçekiç, Ş. Ö. (2014). Bursa ili koyunculuk işletmelerinin yapısal özellikleri ve refah ölçütleri açısından değerlendirilmesi (Doctoral dissertation, Bursa Uludağ University (Turkey)).
12. Ayağ, B. S. (2014). Çanakkale ili geleneksel süt koyuncululuğu işletmelerinin yapısal özellikleri (Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi).
13. Jaborek, J. R., Lowe, G. D., and Fluharty, F. L. (2016). Effects of pen flooring type and bedding on lamb growth and carcass characteristics. *Small Ruminant Research*, 144, 28-34.
14. Vik, S. G., Oyrehagen, O., & Boe, K. E. (2017). Effect of space allowance and flooring on the behavior of pregnant ewes. *Journal of Animal Science*, 95(5), 2032-2040.
15. Akdeniz, M. (2021). Holştayn Irkı Sığırlarda Gübre ve Kum Altlık Kullanımının Bazı Refah ve Davranış Özellikleri Üzerine Etkileri (Master's thesis, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü).

16. Özdemir, G., & Singin, E. (2016). Sığırlarda Barınak, Nakil ve İnsan-Hayvan Etkileşimi gibi Bazı Faktörlerin Hayvan Refahı Üzerine Etkileri. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 13(3), 215-222.
17. Çağrıbay, T., & Şengül, A. Y. (2013). Buzağuların 0-2 Aylık Dönemdeki Bakım Ve Beslenmeleri. *9. Ulusal*, 275.
18. Moura, D. J. D., Bueno, L. G. D. F., Lima, K. A. O. D., Carvalho, T. M. R. D., & Maia, A. P. D. A. M. (2010). Strategies and facilities in order to improve animal welfare. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39, 311-316.
19. Toppel, K., Kaufmann, F., Schön, H., Gauly, M., & Andersson, R. (2019). Effect of pH-lowering litter amendment on animal-based welfare indicators and litter quality in a European commercial broiler husbandry. *Poultry Science*, 98(3), 1181-1189.



**THE GASTROANOMY DILEMMA IN CONTEMPORARY SOCIETY FROM THE  
PERSPECTIVE OF THE IMPLICATIONS ON CONSUMERS HEALTH AND ON THE  
ECONOMY**

*Ana Cláudia Cardoso Lopes<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Escola Superior Dom Helder Câmara, student of Phd Program in Law, with area of concentration in Environmental Law and Sustainable Development, Belo Horizonte, Brazil.*

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7460-3803>

*Maraluce Maria Custódio<sup>2</sup>*

<sup>2</sup>*Escola Superior Dom Helder Câmara, Professor at the Phd Program in Law, with area of concentration in Environmental Law and Sustainable Development, Belo Horizonte, Brazil.*

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2048-7883>

*Lyssandro Norton Siqueira<sup>3</sup>*

<sup>3</sup>*Escola Superior Dom Helder Câmara, Professor at the Phd Program in Law, with area of concentration in Environmental Law and Sustainable Development, Belo Horizonte, Brazil.*

<sup>3</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2530-0272>

**ABSTRACT**

Eating is a basic need that provides the necessary nutrients for the harmonious functioning of the organism. This article aims to address how contemporary society deals with food issues, faced with a whirlwind of options and information that end up generating insecurity, anguish and ignorance of what is truly important in terms of food. Based on the Durkheimian concept of anomie, the French sociologist Claude Fischler coined the term *gastroanomy* when he noticed the diner's autonomy in choosing his food, but also a difficulty in doing so in the face of so many options and information that did not connect, defining the problem: the consumer, influenced by the media and the marketing created by the large food companies, no longer knows what to eat, how to eat, when to eat and what, exactly, he is eating, making healthier and more efficient food choices difficult. Seeking to solve this dilemma, the diner could make an effort to resume the food teachings culturally constructed by their family members, instead of reinforcing a competitive market of industrialized products that will bring increasingly serious health problems. The methodology used in this work was deductive based on bibliographical research.

**Keywords:** *gastroanomy*; food; consumers; diners; how and what to eat.

**1. INTRODUCTION**

The act of eating is a vital need for humans and other animals, in order to meet the basic energy and nutritional needs of the body. Food, in addition to supplying the nutritional function, is also a moment of pleasure, influenced by social, political, economic and cultural issues.

To appear at the table, a certain food carries countless influences from the traditions of each region of Brazil, drawing values passed down from generation to generation by families, expressed in each prepared dish, containing life stories that result in a gastronomy recognized worldwide. Until a food reaches the consumer, it goes through countless processes, from the plantations, harvesting the crops, sorting, raising animals, extracting raw materials from the food bases, processing the food at various levels, until it reaches the supermarket shelves.

This study is based on the ideas of the French sociologist Claude Fischler who created the concept of *gastroanomy*. From this term, the author discusses the paradox regarding contemporary food, where

there has never been so much information about food and its effects on the body, at the same time that humanity is increasingly suffering from health problems related to the poor quality of food.

This article aims, therefore, to address whether contemporary society knows how to deal with food choices, in a scenario that presents the consumer with a whirlwind of food options and information about them, generating insecurity and making it difficult to understand what is really important to know about food. From the concept of *gastronomy* the following problem is perceived: the consumer, deceived by the media and by the marketing created by the big food companies, no longer knows what to eat, how to eat, when to eat and what, exactly, he is eating. Is it possible for consumers to make more efficient food choices, providing better quality of life?

It is notorious that the current situation is full of information about food, which has become a recurring theme in the media, through numerous marketing tactics, generating an excess of opinions, often divergent, even among professionals in the area. From this speech, the economic interests involved will be considered, as well as the nutritional and physiological effects of inadequate food on the human body and its consequences on health, which end up converging on this so-called *gastroanomic* food, where the final consumer does not *really* know the food he consumes and its effects on the body.

This study used the deductive method, with bibliographic research of a qualitative nature. The article is distributed in topics that discuss the concept and philosophical bases of *gastroanomy*, considered as the lack of knowledge about the quality of food available for consumption. After the theorization, the controversy brought about by the concept of *gastroanomy* is addressed from the moment that the effects of the use of a certain food product on health are not known. Finally, the regulations that govern the consumer's rights to understand the product they choose to consume are cited, in addition to the risks and consequences arising from food, both in health and in the economy.

Food and its effects on health and the economy are often controversial issues. It is necessary that the public authorities pay more attention to the importance of healthy eating and accessible information about the foods that reach the consumer, with the aim of more rigorously disciplining and regulating the marketing of products, in order to mitigate risks and damages to the society, in addition to guaranteeing the right to health and human dignity. As for the consumer, if he made greater efforts to return to his origins, valuing, resuming and reproducing the old eating habits culturally constructed by parents and grandparents, he would educate himself and, certainly, the children, who will be the adults of the next generation, to understand the importance of a varied diet, avoiding the growing artificiality of food and the harmful effects that bad food choices can have on human health.

## 2. BASES AND PHILOSOPHICAL PERSPECTIVES OF THE CONCEPT OF *GASTROANOMY*

Anomic evil is also “the evil of the infinite” (Durkheim, 1897 apud Damé, 2019). According to the sociologist, in favorable economic conditions, human beings expand their possibilities of achievement. Therefore, he becomes more individualistic, moving away from the regulatory norms of society. Without laws to serve as support, human beings aspire to everything. However, their insatiability, resulting from the imbalance between needs and means, makes them eternally dissatisfied. When a normative structure undergoes changes, individual conduct is also disturbed (Durkheim, 1897 apud Damé, 2019).

According to Damé (2019), the sociological concept of anomie was described by Émile Durkheim, in 1893, during the Industrial Revolution, in order to describe a chaotic, disordered social state, in which moral coercion on individuals is loosened, leading them to disorder. The term used by the French sociologist uses the Greek radical “*nomos*” (moral law, custom), where *anomie* means absence of laws and/or rules. Durkheim (1893) apud Damé (2019) states that abrupt and sudden changes in society make norms, previously established and satisfactory, become obsolete, uncertain and lose their power, generating a state of social indetermination, dissatisfaction and an existence devoid of meaning. Despite having several meanings, anomie carries in its essence, absence, lack.

The approach to anomie is updated through the perspective of postmodernity arising from the transformations brought about by the Digital Revolution, marked by a loosening of rules and moral rigidity (Damé, 2019). The anomic phenomenon, although it brings the same developments, takes on other guises today, through consumerism, immediacy, characteristics of a new time.

Lévi-Strauss (2005) apud Oliveira and Chêne Neto (2019) brought the symbolic meaning of food, thinking of food as a way of understanding what makes a human being, through the analysis of myths, where food is made up of substances full of nutrients and symbolism, being important for the nutrition, but also to think about the reality that surrounds humanity (Maciel & Castro, 2013). For Moraes (2012), this symbolic representation through myths is imprinted in the way in which projections of the unconscious psyche end up representing dreams, aspirations, feelings and thought patterns of humanity and, in some way, help to shape human behavior. Taking advantage of this reality, consumer industries sell products, “mythologizing” them, that is, involving them in people's dreams and fantasies. This is how the advertising sector works, creating an archetype of health, in order to insert ideas in the consumer's mind so that he believes that such food will bring benefits to the body. The approximations between mythology and advertising allow a company or food industry, through the brand and the myths created by it, to assume contours with signs of personification in the consumer's mind, establishing direct relationships with the individual (Moraes, 2012).

When returning to Durkheim, he stated that anomie would approach a normative collapse, a pathological state of society that ends up taking a high toll on particular, individual issues, modifying behaviors, making them destructive. Claude Fischler (1995) perceives this anguish in the food field, substituting gastronomy for *gastroanomy*, demanding from the consumer the competence to make the right choices in his food, choices that, many times, the individual does not understand and makes without thinking (Pellerano, 2014).

Eating habits are almost always formed from the influence that adults have on younger people and children, giving a lasting sentimental power to eating behavior. The place where you live and the people you live with shape cultural habits, and it would not be different with food as a sociocultural identity factor.

### 3. FROM ANOMY TO GASTROANOMY IN CONTEMPORARY SOCIETY

The analysis and evolution of human nutrition have numerous approaches that can be characterized by various areas of knowledge, whether anthropological, social, economic or health related. According to Richards (1931) apud Oliveira and Chêne Neto (2019), the human diet is a behavioral component, and it is not possible to isolate phenomena considered natural from the sociocultural characteristics of a group.

It is in this context that Claude Fischler (1995) demonstrates that there has never been so much information about food and its effects on the human body and health, while health problems related to poor diet have progressively grown. This question proposed by Fischler is presented as a symptom of modernity, so called, by the author, *gastroanomy*. It is noticed that, even with so much information about food, propagated by all the means of communication that one has access to, people cannot have a clear and evident notion of what to eat, how to eat it, when to eat it and why to eat a certain food (Medeiros & Galeno, 2013).

This range of information about food does not help human beings eat better. Food modernity has created a wide decision-making field for diners: what to choose to eat? The answer to this question is full of variables, divergences, dichotomies, disagreements and even lack of knowledge. For this state of absence of dietary rules, Fischler resorted to the Durkheimian concept of anomie, creating the neologism *gastroanomy* (Medeiros & Galeno, 2013).

Bringing Durkheim's ideas to light again, anomie concerns the lack of reference to practical rules of life in society. For the author, anomie is the social cause of deviation, of non-recognition of the social (or legal) norm by the individual. Anomie is understood as a problem of maladjustment of more traditional populations to the turbulence of modernity. However, it is important to mention that anomie can also be understood in Durkheim, in a more radically sociological perspective, when one realizes that food will always exist in any society and that its insertion in different cultures would be a behavior with social functions of innovation and creativity (Dores, 2004).

For Fischler (1995), current times allow greater autonomy for diners to make their food choices. For the author, this growing autonomy is the bearer of anomie. The individual cannot maintain healthy eating

habits, forced by a competitive market of brands and advertisements that encourage consumption for consumption's sake, making it difficult to understand what to eat and what not to eat.

Today, the media bring a wide range of information about food that individuals need to live with and end up absorbing. This multiplicity of normative discourses in relation to food seems to result in a lack of voice and clear understanding, placing people in a scenario of malaise, uncertainty and anxiety, that is, an anomie towards the lack of accurate information or excess of ideas that do not converge to a single and effective discourse.

Fischler (1995) points out that the variety of choices that individuals currently have increases as the social determinisms that govern different aspects of life weaken, such as family, education, children, friendships and, obviously, the feeding. Then, an individual competence for choice emerges, where anomie would be the state in which the rules are shown to be inefficient and the individual needs to decide for himself.

Anthropologist Claude Fischler (1995), who coined the term *gastroanomy*, raises an important question: "Does too much information kill information?". The whirlwind of information about food to which the consumer has access assumes threatening forms that end up feeding the state of anomie or *gastroanomy* and the diner's life becomes a continuous experimentation, where he is the guinea pig that feeds a system full of uncertainties, causing a feeling of food panic.

Fischler, in an interview given to the anthropologist Mirian Goldenberg, discusses the work *El (H)omnivore and Comer*, where the author analyzes "the difficulties that people have in dealing with the complexity that eating practices and representations have become in contemporary society" (Fischler, 1995). From these ideas, it is questionable whether today, with the Digital Revolution and the complexity of the means of production of food products and their countless possibilities of choice, humanity is not going through new times of anomie and, in view of that, what harm would reveal itself in the body, physiology and health of individuals.

*Gastroanomy* would then be the diagnosis of a sick body, through an anxiety conflict that affects the body, permeating disorders such as anorexia and obesity, to the uncomfortable anomic freedom that generated eating patterns that came to portray a crisis in the diet of the contemporary society (Medeiros & Galeno, 2013). *Gastroanomy* can be seen, then, as a social pathology, leading individuals to suffering and the effects on health derived from the ingestion of foods of dubious nutritional quality, full of additives, sugars, bad fats and high levels of sodium.

*Gastroanomy*, or food considered anomic, occurs when society undergoes intense transformations regarding the essence of food and its primary functions, losing its references. Individuals find themselves surrounded by food uncertainties, causing growing states of dissatisfaction and indetermination, feelings of discontent and frustration, which end up interfering psychologically, causing an anxiety processes and possible eating disorders. People start to eat without knowing what they are eating, what to eat and why to eat. Without limits and without guidelines, they cross the barrier of what is healthy, feeding on what is accessible, cheap and that causes good sensations, even if putting health at risk.

#### **4. ECONOMIC PERSPECTIVES OF THE IMPLICATIONS CAUSED BY ANOMIC AND/OR GASTROANOMIC FOOD CHOICES**

The new food reality is seen from the moment that the food industry became part of most of society's meals. We live in a time when "a portion of the collective culinary effort has been directed from the kitchen to the factory" (Fischler, 1995). In other words, food today is based on opening packages, in a complex range of products, processed and produced within industries and sold by the media through advanced marketing techniques, where the consumer does not even realize that he is being influenced to buy a certain food. .

The consumption of industrialized foods was consolidated, causing an impact on the habits and food preferences of consumers around the world, creating new ways of eating and relating to food in an attempt to facilitate food decisions (Pellerano, 2014).

The human being eats to live, but not in any which way. Each meal has rules that dictate what should be ingested and in what proportion, forming a food system, which would be a set of social structures

that constitute the process that goes from production, distribution, commercial transactions, preparation, combination of ingredients, to consumption of food.

Fischler (1995) points out that food has become an industry that distances the consumer from the production process and transforms what is eaten, from the processing of the ingredient considered as raw material to the finished dish, transforming these products into “food-services”, since they are transformed to save cooks and consumers time and work.

It is worth considering that in today's technological society, even within large companies, technological advances have transformed all processes into services, from transportation, computers that do most of the service, automation systems, the buying and selling sector, even in health and education this phenomenon is evident today. Certainly, the food context could not escape this, where food was transformed into a service, being a final product of a complex process, to be offered to consumers.

For Moraes (2012), given this reality, consumer industries sell products as if they were myths, symbols, connected to people's dreams and fantasies. This is how the marketing sector bases its work, introducing in the consumer's mind that a certain food will bring health benefits. This advertising technique allows access to the consumer's mind, creating an inventory of images, perceptions and sensations, defining the importance of brands. In this scope, there is a seductive world with countless characters that end up associated with the product, thus defining the brands. The food industry makes use of these techniques to create the sensations that your product/food will cause in people.

Moraes (2012) completes that the role of advertising campaigns is to position the brand in the consumer's mind, creating an emotional bond based on a "brand mythology" that transmits a message encouraging the consumer to adopt a specific behavior for the acquisition of products. Behind these intentions, it can be inferred that there is an education for consumption that seeks to train subjects who are not very reflective, vulnerable to the culture of the promise of happiness, that is to say, it is a training for unconscious consumption, of the belief in personal fulfillment based on the purchase of a particular product. This analysis is valid for the food sector, as the media uses the same resources to inject messages into the human mind and sow desires, leading the individual to irrational consumption, in order to relieve tensions and anxieties, temporarily.

According to Decree N° 986, of October 21, 1969, which establishes basic norms on food, “food is any substance or mixture of substances, in the solid, liquid, paste or any other suitable form, intended to provide the human organism with the normal elements for its formation, maintenance and development”. Within the industry, *in natura* foods, obtained from plants or animals and purchased for consumption without having been altered, undergo processing that transforms the raw material into a ready-made product, easier to transport, preserve and prepare. After these operations, foods can be classified into three groups. The first group consists of unprocessed or minimally processed foods, *fresh foods* that have undergone minimal changes in the industry, such as milling, drying, pasteurization, etc. (vegetables, fruits, eggs, meats). The second group is processed foods, which concern products made with the addition of salt, sugar, oil or vinegar, which already alters their nutritional balance, so their consumption can increase the risk of diseases, such as heart disease, obesity and diabetes (preserved, canned, tomato paste, fruit in syrup). The last group is the one that includes ultra-processed foods, which are industrial formulations typically made with five or more ingredients. In general, they are nutritionally poor and rich in calories, sugars, fats, sodium and chemical additives, with enhanced flavor and a longer shelf life, and obviously favor the occurrence of nutritional deficiencies, obesity, heart disease and diabetes (ice cream, cookies, sweets, *fast foods*, frozen foods, soft drinks, chocolate milk, etc) (Brazil, 2014).

It is a fact that, after the Industrial Revolution, the weakening of regulatory forces fell on food, converging on new ways of eating and relating to food. Fischler (1995) realized that the traditional culinary rules, production method, harvests, distribution of ingredients, processing, gastronomic techniques, consumption itself and the cultural values involved in these stages, went through a process of deinstitutionalization, in which the structure of the gastronomy gave way to *gastroanomy*. Consumers ended up creating new ways of eating and relating to food, in an attempt to make their food decisions easier, which brought more insecurity.

The reading of food packaging labels by lay people has become common, in a hopeful search for healthier and more natural products, with less interference from industrial processes, with less calories, fat, additives, preservatives and the villain of the moment, sodium, one of the responsables for the increase or worsening of cases of high blood pressure. Reading labels is complex, the information contained there is not always clear and objective, leading consumers to believe in what is often convenient for them. Today labels focus on terms that have a certain scientific resonance such as: cholesterol, fiber, gluten and saturated fat. The labels do not focus on the main composition of the food itself, because, if that were the case, the consumer would realize that milk chocolate, for example, has almost no cocoa, one of its raw materials.

To try to remedy this problem, food labeling laws have undergone changes in order to guide consumers to better understand what they are ingesting. This orientation is necessary because even the provision of food in the markets is aimed at seducing the consumer to buy that product that is pleasurable. Decisions to change were announced in 2020, when National Health Surveillance Agency (ANVISA) published Resolution N° 429 and Normative Instruction N° 75, detailing changes in food labeling. These changes took effect on October 9, 2022.

These normative instructions introduce new changes to the nutritional information table, with the adoption of nutritional labeling on the front of the food package, so that it is more visible to the consumer. Normative Instruction N° 75/2020 brings all the labeling models, and determines how food companies should physically organize the labels, to meet the new required criteria. Resolution N° 429/2020 details how a food label would be made within the parameters required by the National Health Surveillance Agency, ANVISA.

The nutritional information table, established by ANVISA Resolution N° 429/2020, will undergo significant changes. The first of these changes, in accordance with ANVISA's normative instruction N° 75/2020, is that the table will now have only black letters on a white background. The objective is to rule out the possibility of using contrasts that interfere with the readability of the information. Another change will be in the data made available in the table, which will now require the declaration of total and added sugars, energy and nutrient value per 100g or 100ml, to help compare products, as well as the number of servings per package. The table must be located next to the list of ingredients, not being accepted division of information. It cannot be presented in covered areas or places that are difficult to see (ANVISA 2022).

Considered the greatest innovation, front nutritional labeling is an informative symbol that must appear on the front panel of the package. The idea is to clarify the consumer, in a clear and objective way, about the high content of nutrients that are relevant to health. A magnifying glass design was then developed to identify the high content of three nutrients: extra sugars, saturated fats and sodium (all of which are linked to health problems when consumed in excess). The symbol must be applied to the front of the package, at the top, as it is a region of immediate visualization (ANVISA, 2022).

All the changes with regard to food were also intended to meet basic food needs, although one of the objectives would be to have food available, without making too much effort, a goal that was achieved in industrialized and packaged products, with a deadline of extended shelf life, even more palatable flavor, attractive packaging, that is, added value to the food. Today, people buy ready-made cakes, stuffed biscuits, snacks, frozen food that just needs to be put in the microwave and, in a snap of fingers, is ready for consumption.

The tendency is for this process to intensify, from generation to generation, because the children of the current generation are already eating these customs, and later generations will tend to have an even more troubled relationship with food, because the excess of information conveyed by a media willing to sell, is a partner of anomie and *gastroanomy*. Even with so many options and so much marketing, eating habits from parents, grandparents and great-grandparents, eating with variety (vegetables, tubers, greens, fruits, meat, eggs, milk and derivatives), have been reduced, which is a paradox. Younger people tend not to vary their diet, and always eat the same foods that, most of the time, are not healthy.

In order to try to improve the quality of food for children and adolescents, Law N° 11.947 was approved, on June 16, 2009, PNAE - National School Feeding Program, which provided for school feeding in Basic Education. In its Art. 1, the Law defines as school meals all food offered in the school

environment, regardless of its origin, during the school term. In item I of the aforementioned article, it is determined that the use of healthy and adequate food must include the use of varied, safe foods that respect the culture, traditions and healthy eating habits, contributing to the growth and development of students and to the improvement of school performance. In item II, the inclusion of Food and Nutrition Education in the school curriculum is suggested, in order to address the theme of food and nutrition and provide the development of healthy life practices, from the perspective of food and nutrition security. With this legislation, the concern with regard to school meals gained several decrees and state laws that ended up prohibiting the sale of ultra-processed, industrialized, sugary, and high-calorie foods in schools, in order to try to reduce the problem and contribute to a healthier diet in the school.

The famous “colored plate” taught by older people has been replaced by the colors of the many brands and packages of industrialized products, not by the variety of *in natura* or minimally processed foods. Therefore, there is an urgent need for changes, which start inside homes, but also permeate schools. With a closer look from the government, this scenario can still be modified and provide benefits to the health of the population.

### 5. HEALTH AND GASTROANOMY: DILEMMA, RISKS AND CONSEQUENCES

In the digital age, we are subjected to a daily bombardment of information and news about food. How to deal with so much innovation and information? All these transformations bring the promise of facilitating people's lives and making food more accessible, but, in practice, they can present themselves as forms of suffering in a society marked by consumerism, where practical food becomes dangerous, full of components unknown and that can be harmful to health. The subject succumbs because he no longer knows what makes sense to eat, nor can he make better food choices in the face of so much information. The compass of change operates at such a speed that it seems that there is not enough time to keep up with everything, and, in fact, there is not.

According to Durkheim's typical notion of anomie, or as Fischler adds as *gastroanomy*, everything happens as if the complexification of the possibilities of food choices and the horizons of individual decision led to a kind of deregulation of social norms, causing decision inability for one food or another and, consequently, suffering that could lead to health problems, even more serious ones (Damé, 2019).

The increase in consumption of industrialized food is notorious. According to the latest IBGE Household Budget Survey, which included data between 2017 and 2018, on average, 19,7% of the calories consumed by Brazilians come from ultra-processed and industrialized foods (IBGE, 2020). The food options multiply, demanding from the consumer a new competence to choose their food. This choice brings anguish instead of satisfaction, as the excess of possibilities generates anxiety and fear of regret. Symptoms also appear to have anomic features. Every day, patients are diagnosed with “panic attacks” in hospital emergency rooms and cardiologists' offices.

Going a little deeper with regard to the composition of the foods available to the consumer, even with rules and regulations for labeling, physicochemical properties, impurities and chemical substances inserted, the population does not know what they are buying when they remove a food from the supermarket shelf, let alone know what they are ingesting, in terms of the nutritional content of that product and its positive and negative effects on the body.

The reasons for *gastroanomy* do not refer only to food abundance, but to the proliferation of information that bombards consumers, making their decisions uncertain. This information comes from various sources: the media, doctors, nutritionists, food industry advertisements that encourage prescription and prohibition discourses that do not always converge to a common point, creating what Fischler (1995) called “food cacophony”. Hyper-informed, individuals are in an eternal state of alert regarding the next food novelty or threat” (Pellerano, 2014).

There is, therefore, a paradoxical situation. There has never been so much information about food and its influence on the human body, while humanity has never faced so many health problems derived from poor diet. The root of this paradox seems to be associated with the troubled relationship of human beings with food and their difficulty in understanding exactly what they are ingesting, that is, the *gastronomy* of contemporary food. Data that prove the increase in health problems are in a recent research carried

out in 195 countries, published in the medical journal *The Lancet*, determining that poor diet is the main risk factor responsible for deaths around the world, placing Brazil in 50th place.

One idea brought by Pellerano (2014) is that new scientific discoveries began to associate and disclose that food is a complex of nutrients (proteins, fats, carbohydrates, mineral salts and vitamins) which allowed to depreciate or praise certain foods without having to mention their names, avoiding legal fights with the food industry. From then on, the disease was no longer blamed on pork but on the saturated fat embedded in it. Contreras Hernández (2011) apud Pellerano (2014) concludes that “this attitude would have strengthened a scientific approach to food, further confusing the consumer”.

Contemporary society does not seem to eat meat, eggs, greens, fruits, vegetables, yogurt, pasta and drink wine, it is consuming amino acids, calcium, iron, fructose, starch, lactose, glucose, flavonoids, vitamin complexes, fibers, fatty acids and ethyl alcohol. Not that such components are not important, they are the basis for understanding metabolism, but understanding their influence on the human body is a responsibility of food health professionals, not diners. People need to stop worrying about extraneous details and start eating real food! This phrase is often used in the offices of Nutrologists and Nutritionists.

Confused, people feedback a cycle: scientific inconsistency combined with food marketing, due to consumption for profit by large companies and food industries, generate consumers eager for guidance that feed the industry of nutritional misinformation (Pellerano, 2014). At that moment, the cultural and economic changes regarding which foods should be on consumers' tables are perceptible, through marketing campaigns that manage to name certain foods as villains and others as heroes. Eggs, animal fat, vegetable fat, are examples of this discourse, as they have already alternated in the dock in different generations (Pollan, 2008).

The uncertainty generated by the countless options of individual choices makes consumers try to control their diet in a restrictive way, which can lead to eating disorders, such as anorexia and bulimia. A new disorder was described by the American physician Steven Bratman, who named it orthorexia, or obsession with eating healthily, ignoring the pleasure provided by food and limiting oneself to eating foods considered, by the person with the disorder, to be healthy. These people remove sugars, carbohydrates, fats, pesticides, transgenics and allergenic products (containing lactose, gluten, etc), causing various nutrient deficiencies and even disturbing social interaction.

Another issue to be mentioned about the search for a healthier lifestyle is that this search has another side, the need to control food to maintain an ideal weight, often disseminated by the media as a body standard, which brings a contradiction: the same media that encourages individuals to eat industrialized and nutritionally poor foods also inserts a weight considered ideal in people's consciousness. This idea impacts the human mind, causing the scale to start making nutritional choices. As Poulain (2004) states, nutritional knowledge was adopted as the official discourse of an industry that survives thanks to lipophobia, or the fear of getting fat.

Overweight and obesity are hotly debated issues, as they actually contribute to an increase in cardiovascular disease, the onset of diabetes, increased cholesterol and other health problems. Illnesses derived from being overweight end up moving the food and pharmaceutical industry market, with the promise of a supposed nutritional and physiological balance, whose rules and conduct change periodically. There are many drugs involved in the treatment of obesity, both in appetite control and neurological issues concerning anxiety and depression. People need a team of professionals to help them, doctors, nutritionists, metabologists, endocrinologists, each with their own behavior. Diets and food plans are guided, with new food options and the feedback loop of options and *gastroanomy* is restarted.

It is important to mention that restrictive diets are difficult to follow and, especially, to maintain. It is easier to lose weight than to maintain weight loss. The change needs to be in eating habits, change of routine, of life. Often, people who are on severe restrictions alternate periods of diet sequence with reward episodes. In an attempt to remedy this problem, the industry created *diet* and *light* foods, widely adopted by consumers looking for “healthier” options, moving, once again, the market for food products. But do all these products bring the desired effect? Pleasure to eat and at the same time avoid weight gain?



The requirement of the thin body cult pattern falls on the responsibility of the individual, presenting itself as moral, individual duties and not a collective responsibility. Anomie is verified when obesity is perceived as a pandemic in society and its consequences on the health of individuals. In this gap, pressures on the modern diner flourish, where food becomes a field of personal decisions, fueled by identity, hedonistic and aesthetic norms, where gastronomy has deeply settled in individuals (Medeiros & Galeno, 2013).

It is a fact that the consumption of processed foods increases to the detriment of *fresh foods* and homemade preparations. According to Pellerano (2014), when what individuals know as healthy conflicts with the pleasant side of food, the rules about what to eat, when to eat, how to eat weaken, opening space for information that confuses the diner. Consumers exposed to processed foods need to devise personal strategies, such as reducing the amount of products, reading labels correctly and carefully, creating rules of conduct to control what will be ingested. To decide, people access criteria based on socioeconomic and cultural contexts and the act of eating in any way can lead people to eat poorly, that is to say, autonomy leads to gastronomy today.

Paradoxically, in a society that does not know how to eat, what to eat and when to eat, the increase in eating disorders is evident, at the same time that, curiously, the pursuit of health causes malnutrition or obesity, by moving consumers away from the root of familiar food due to artificial substances that he believes are good for his body.

One last point to be addressed is that, it is already known that an anomic or *gastroanomic* diet can bring changes to the individual's health and, once sick, the individual starts to need treatment, which is often done in a layman's way through the self-medication and diet changes without the assistance of a professional. Medications used incorrectly are dangerous, one example is weight loss medication, which can even enter into this context. We could perhaps infer a *pharmacoanomy*, an unregulated use of medicines and other drugs to try to solve problems that could be, at least partially, reverted with a healthier diet and the regular practice of physical activities. There is a provocation to think about: anomie as disorder and lack of guidance on the range of foods available, generates *gastroanomy* in individuals who, after the diagnosis of the sick body, would enter a state of *pharmacoanomy*, use of medicines and modifications in the diet, to try to alleviate the effects on health and, many times, would end up worsening the situation and restarting the cycle of inadequate practices for the organization of food.

Current nutrition tirelessly mentions the need for dietary re-education, but it is noticeable that the base of consumer knowledge about food and its influence on health is incipient. It is necessary to begin to understand meals based on Food Education, from childhood, that resumes the values culturally constructed by parents and grandparents, leading children to eat more natural foods. There is no way to think about re-education if basic education has not been carried out, from the composition of food, its physiological responses, its social and economic aspects. A child oriented to learn to think about food in a healthier and more sustainable way will be an adult who will eat better and seek healthier habits, passing this premise on to their next generations.

Diners will always be looking for the answer to what it means to “eat well” and may never be able to solve this question completely in a theory that summarizes all the fundamental information on the subject. Perhaps a light at the end of the tunnel is to stop thinking about food “for people” and start thinking about food “with people”, guiding them to deal with all the information they come across in order to make choices that can leave the field of *gastronomy*, towards the understanding of food that can provide the true physical and mental health of individuals.

## 6. CONCLUSION

Human beings are immersed in an excess of information about food, where *gastroanomy* has been appropriating its essence, from the shelves of supermarkets to the moment of putting food in the mouth, in a continuous struggle between freedom of choice and restrictions, in search of the individual balance of the organism.

People no longer know what to eat, what they are eating, how to eat and when to eat a certain food, because today we are experiencing a moment of food insecurity and, why not say, food panic, caused by the excess of information that, instead of helping, ends up bringing more questions to diners.

The more insecure consumers are with regard to food, the more the speeches offered by the market and the media to help “remedy” the problems flourish. The competitive market and exacerbated consumerism further reiterate food uncertainties, due to consumption for consumption and consumption for profit, converging in a society of sick bodies, whether due to ignorance of what, in fact, one eats, or due to difficulty understanding what is really healthy.

In a scenario that does not seem to reflect symptoms of improvement, people are divided by the pleasure that more artificial food provides and the health risks caused by it. The food options offered to consumers reinforce market choices, influencing consumers to make poor food choices without proper knowledge and guidance, causing an increase in health problems derived from poor diet and, often, causing even greater consequences such as self-medication, which generates even sicker bodies.

If the evolution of food allowed the exchange of old eating habits from previous generations towards the artificialization of food, replacing natural foods with industrialized foods, packaged and full of unknown components, it would be sensible to rethink a resumption of food traditions from parents and grandparents, focused on gastronomic values culturally constructed for decades.

It is possible, then, to think about the return of true gastronomy on the Brazilian table to try to stop, or even combat, the so-called *gastroanomy* of today. This return to family traditions could be influenced from childhood, at home and in schools, through Food Education and the incorporation of this type of education into the school curriculum. From an education focused on the true roots of food and its benefits, combined with the effective application of existing laws that encourage the reduction of ultra-processed foods in schools, the most tangible contribution emerges to allow future consumers to rediscover understanding about their diet and can go back to making food choices that allow them to maintain the pleasure of food and, at the same time, improve their health and quality of life.

#### 4. REFERENCES

ANVISA. National Health Surveillance Agency. Ministry of Health, 2022. Available at: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2022/rotulagem-nutricionalnova-regras-entram-em-vigor-em-120-dias> . Accessed on: November 15, 2022.

BRAZIL, Ministry of Health. Law No. 11947, of June 16, 2009. Provides for providing school meals and the Direct Money at School Program to basic education students. Available at: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_Ato2007-2010/2009/Lei/L11947.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2007-2010/2009/Lei/L11947.htm). Accessed on: February 22, 2023.

BRAZIL, Ministry of Health. 2014. Food guide for the Brazilian population. 2nd ed., 1 . reprint . – Brasília/DF: Ministry of Health. Available at : [https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia\\_alimentar\\_populacao\\_brasileira\\_2ed.pdf](https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_alimentar_populacao_brasileira_2ed.pdf)

BRAZIL, Ministry of Health. 2020. Resolution No. 429, of October 8. Provides for the nutritional labeling of packaged foods. Available at : <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-de-diretoria-colegiada-ndc-n-429-de-8-de-outubro-de-2020-282070599>

BRAZIL, Ministry of Health. 2020. National Health Surveillance Agency/Collegiate Instruction Board. Normative N° 75, of October 8 , 2020, DOU, national press . Establishes the technical requirements for declaration of nutrition labeling on packaged foods. Available at: <file:///C:/Users/Sony/Downloads/INSTRU%C3%87%C3%83%20NORMATIVA%20N%C2%BA%2075,%20DE%208%20DE%20OUTUBRO%20DE%202020.pdf> \_

Contreras Hernandez, J. (2011). Food modernity: Between overabundance and insecurity. History: Questions & Debates, Curitiba, Jan./Jun. 2011, n° 54, n° 1, pp. 19-45. Available at: < <http://ojs.c3sl.ufpr.br/ojs/index.php/historia/article/view/25736>>.

Damé, C. (2019). Anomie and malaise in the 21st century. Rev. CEP of PA, v. 26. Available at: <https://cepdepa.com.br/wp-content/uploads/2020/04/11-C%C3%A2ndice-Dam%C3%A9-Anomia-e-mal-estar-no-s%C3%A9culo-XXI.pdf>

Dores, A.,P. (2004). Communication to the Days of Penitentiary Studies, org. Paulo Pinto Albuquerque, 7 and 8 May, Faculty of Law of the Catholic University of Lisbon António Pedro Dores, Department of

Sociology, CIES, ISCTE. Available at: [http://www.dhnet.org.br/direitos/sociologia/dores\\_anomia\\_durkheim.pdf](http://www.dhnet.org.br/direitos/sociologia/dores_anomia_durkheim.pdf)

Durkheim, É. (1893) From the social work division. Sao Paulo: Martins Sources , 1999 apud Damé, C. (2019). Anomie and malaise in the 21st century. Rev. CEP of PA, v. 26. Available at: <https://cepdepa.com.br/wp-content/uploads/2020/04/11-C%C3%A2ndice-Dam%C3%A9-Anomia-e-mal-estar-no-s%C3%A9culo-XXI.pdf>

Durkheim, É. (1897) Suicide: Study of Sociology. São Paulo: Martins Fontes, 2000 apud Damé, C. (2019). Anomie and malaise in the 21st century. Rev. CEP of PA, v. 26. Available at: <https://cepdepa.com.br/wp-content/uploads/2020/04/11-C%C3%A2ndice-Dam%C3%A9-Anomia-e-mal-estar-no-s%C3%A9culo-XXI.pdf>

Fischler, C. (1995). The (H)omnivore : the taste, the kitchen and the body. Barcelona: Editorial Anagrama. 1- 420.

Goldenberg, M. (2011). Culture and gastro-anomy : psychopathology of everyday eating. Interview with Claude Fischler. Anthropological Horiz. [accessed 2012 Nov 13]; 17(36): 235-56. Available at: <<http://www.scielo.br/ha>>. doi : 10.1590/S0104-71832011000200010.

IBGE, Brazilian Institute of Geography and Statistics. (2020). Household Budget Survey 2017-2018: Analysis of personal food consumption in Brazil. Ministry of Economy. IBGE: Rio de Janeiro, 1- 120. Available at : <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv101742.pdf>

Lévi- Strauss, C. (2005). From honey to ashes (Mythological v.2). São Paulo: Cosac Naify apud Oliveira, T.; Chêne Neto, G. (2019). Eating: vital necessity, metaphor of social life. Equatorial – Journal of the Graduate Program in Social Anthropology, v. 6, nº. 11, 1–12. DOI: 10.21680/2446-5674.2019v6n11ID19105. Available at : <https://periodicos.ufrn.br/equatorial/article/view/19105> Accessed on: 12 Nov. 2022.

Maciel, M. E.; Castro, H. C. (2013). Good food to think about: practices, tastes and food systems from a socio-anthropological perspective. Available at: < <https://www.e-publicacoes.uerj.br/index.php/demetra/article/view/6648/5676> >. Accessed on 15 Jul. 2019.

Medeiros, M.; Galeno, A. (2013). Perspectives on contemporary food: gastro-anomia and botero bodies. Rev. Nutr. Campinas. 26(4): 465-472. Available at : <https://doi.org/10.1590/S1415-52732013000400008>

Oliveira, T.; Chêne Neto, G. (2019). Eating: vital necessity, metaphor of social life. Equatorial – Journal of the Graduate Program in Social Anthropology, v. 6, nº. 11, 1–12. DOI: 10.21680/2446-5674.2019v6n11ID19105. Available at : <https://periodicos.ufrn.br/equatorial/article/view/19105> Accessed on: 12 Nov. 2022.

Pellerano, J. (2014). Anomy and gastro-anomy : industrialized food and its impact on contemporary food choices. Semicolon, 15, 90-106. Available at: file:///C:/Users/Sony/Downloads/22578-Texto%20do%20Article-58064-1-10-20150401.pdf

Pollan, M. (2008). *In defense of food*. Rio de Janeiro: Intrinsic. Poulain, JP. (2004). Sociologies of food: Eaters and the food social space. Florianópolis : Editora da UFSC.

Richards, A. (1931). Hunger and work in a savage tribe. Glencoe: the Free Press apud Pellerano, J. (2014). Anomy and gastro-anomy : industrialized food and its impact on contemporary food choices. Semicolon, 15, 90-106. Available at: file:///C:/Users/Sony/Downloads/22578-Texto%20do%20Article-58064-1-10-20150401.pdf

The Lancet. (2017). Diet GBD contributors. Available at: [\\_ \\_ thelancet. com/ action / showPdf? pii =S0140-6736%2819%2930041-8](https://www.thelancet.com/action/showPdf?pii=S0140-6736%2819%2930041-8)

## FEATURES OF LIGULOSIS *RUTILUS RUTILUS* AND *ABRAMIS BRAMA* IN THE DNIPRO RESERVOIR

*Victoria Stanislavivna Sydorenko*

*Dnipro National University named after Oles Honchar*

*Faculty of Biology, Ecology and Medicine*

*Department of General Biology and Aquatic Bioresources*

*city of Dnipro, Ukraine*

*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5042-3138>*

### ABSTRACT

The paper describes data related to the study of the characteristics of the invasion of bream and bream in the Dnieper Reservoir. Samples of experimental fish were collected along the shoreline of the Dnieper Reservoir in the lower part of the village Voyskove and village Mykilske-on-the Dnipro, Dnipropetrovsk region in the summer-autumn period. During this time, 27 infested specimens of bream and 32 specimens of bream affected by the flatworm *Ligula intestinalis* were found. The intensity of the bream invasion was  $2.1 \pm 1.32$  ( $P < 0.05$ ), and the extensiveness of the invasion was 37.5%. In gossip, respectively,  $II - 1.2 \pm 0.78$  ( $P < 0.05$ ),  $EI - 22.6\%$ . The presence of parasites in the abdominal cavity caused pathologies in the internal organs of the experimental fish - the liver, spleen, gonads atrophy due to mechanical pressure, change their natural size, color and shape. Liver lobes have an uneven color, the size of the liver of infested fish is slightly smaller than that of non-infested individuals. In addition, there are areas of necrosis and hemorrhage. When parasites are localized in the intestines, hemorrhages, areas of necrosis, and inflammatory processes are also found. The obtained results make it possible to establish that ligulosis of freshwater fish species is a rather dangerous disease. At the same time, the invasion of bream and bream leads to a decrease in their weight and fatness, and irreversible pathological changes in the internal organs are caused due to mechanical pressure and migration of parasites. In addition, there are deviations from the norm in the functioning of the blood of fish.

**Keywords:** helminths, parasite, invasion, ligula, erythrocytes, leukocytes, liver, intestine.

### INTRODUCTION

A significant area of Ukraine is occupied by freshwater reservoirs - rivers and lakes, which play an important role in the population's agriculture, particularly in fish farming. Commercial fish farming is a promising branch of the agricultural industry, which aims to provide the population with high-quality fish products. Fish is a valuable food product: it contains valuable proteins with a balanced content of essential amino acids, vitamins and minerals. Therefore, the demand for fish products of domestic production is growing.

With the development of the fishing industry in Ukraine, the problems of fish infestation by various parasites, in particular helminths with complex development cycles, are becoming more and more relevant. Outbreaks of such an invasive disease as ligulosis, caused by the helminth *Ligula intestinalis*, are often recorded in many natural reservoirs [1, 2]. Therefore, the purpose of this work was to study the characteristics of the invasion of bream and bream in the Dnipro Reservoir.

### RESEARCH

The selection of fish was carried out during 2020-2021 during planned controlled catches and was bought from fishermen at the catch site. Sampling was carried out along the shoreline of the Dnieper Reservoir in the lower part of the village. Voyskove and village Mykilske-on-the Dnipro, Dnipropetrovsk region in the summer-autumn period.

During this time, 27 infested specimens of bream and 32 specimens of bream affected by the flatworm *Ligula intestinalis* were found. During the catch, it was recorded that fish affected by this helminth most often stay near the surface of the water and behave very lethargic.

The morphological study was carried out by carefully examining the surface of the scales and integuments. They paid attention to the fins, the amount of mucus, its consistency, color change, the presence of tumors, hemorrhages, ulcers, cysts, large ectoparasites, and the condition of the eyes. When examining the gills, the shape and structure of the gill petals, the degree of their sliminess, and color were noted. The oral cavity was examined separately. At the same time, infested specimens were found to have a swollen abdomen in almost all the studied individuals.

Parasitological research was carried out by a complete anatomical dissection of the fish according to the classical method. The abdominal cavity was dissected with an incision that started from the anus and was directed to the head. Each organ was dissected and separated.

Blood was also taken from infected fish for analysis. Blood was collected from the tail vein of the fish according to the classical method. Blood smears were fixed with methyl alcohol and stained according to Romanovsky's method with Giemsa's standard solution. Blood smears were examined by microscopy at a magnification of 40x. Blood smears of non-infested fish were used as controls. 30 fields of view were examined in each smear.

During the ichthyopathological analysis of experimental samples of bream and bream, flatworms of white and light yellow color, width from 0.5 to 1.2 cm and length from 7 to 10 cm, were found in the abdominal cavity. The identified parasites showed signs of vital activity.

II of bream was  $2.1 \pm 1.32$  ( $P < 0.05$ ), while EI is 37.5%. In gossip, respectively, II –  $1.2 \pm 0.78$  ( $P < 0.05$ ), EI – 22.6%.

The presence of parasites in the abdominal cavity caused pathologies in the internal organs of the experimental fish - the liver, spleen, gonads atrophy due to mechanical pressure, change their natural size, color and shape. Liver lobes have an uneven color, the size of the liver of infested fish is slightly smaller than that of non-infested individuals. In addition, there are areas of necrosis and hemorrhage. The lighter color of the liver of sick fish may be due to excessive accumulation of lipids. When parasites are localized in the intestines, hemorrhages, areas of necrosis, and inflammatory processes are also found.

When performing microscopy of blood smears of experimental and control fish, attention was paid to the number of formed blood elements, their structure, shape, size and location of the nucleus. Our studies on the shape and morphological indicators of bream erythrocytes at an intensity of infection of  $2.1 \pm 1.32$  copies/fish with the flat helminth *Ligula intestinalis* showed the following. Most erythrocytes of non-infested bream individuals have an ellipsoidal shape with a well-defined membrane. There is the presence of a small number of young forms of erythrocytes. The nucleus is oval-shaped, located in the center, clearly defined. In infected specimens, 24.3% of erythrocytes are deformed: the cell membrane is not clear, erythrocytes have a slightly inflated shape. In some erythrocytes, the nucleus was faintly visible.

A similar clinical picture is also observed in infected individuals of flounder at an intensity of invasion of  $1.2 \pm 0.78$  specimens/fish. At the same time, the longitudinal and transverse diameters of erythrocytes of infected fish are within the physiological norm. Thus, the longitudinal and transverse diameters of bream are  $13.21 \pm 1.07 \mu\text{m}$  and  $7.3 \pm 0.04 \mu\text{m}$ , respectively, while those of bream are  $11.8 \pm 1.1 \mu\text{m}$  and  $6.4 \pm 0.54 \mu\text{m}$ .

However, it was found that there were more young forms of erythrocytes in the experiment compared to the control. So, in the control, only 12% of breams and 14% of breams and breams account for young erythrocytes, while in the experiment - 28% - infested individuals of bream and 33% - breams. Which, in turn, may indicate a lack of oxygen in the body as a result of disturbances in the functioning of adult forms of erythrocytes of affected fish or as a result of intoxication of the body of fish with products of the vital activity of parasites, which leads to a violation of metabolism and mitotic division of cells.

The leukocytes of the blood of fish are less homogeneous, compared to erythrocytes, a group of cells with a greater variety of linear sizes, a diverse structure of the nucleus, cytoplasm, and even the cell membrane. Lymphocytes are blood cells of fish, which make up about 99% of the leukocyte series. In experimental blood smears, lymphocytes have a very large nucleus that occupies almost the entire volume of the cell. The total number of leukocytes in the field of vision is  $17 \pm 0.23$  pcs. in sight. in bream and  $13 \pm 1.12$  pcs. in sight. in gossip.

A very important indicator of fish health is the ratio of leukopoiesis and erythropoiesis cells. In adult fish, the leukoerythroblastic ratio is within 25-35%, it shows the ratio of the percentage content of all elements of the lymphoid series to the percentage content of all elements of the erythroid series. In the test sample, the leukoerythroblastic ratio is 13.6% in infected bream and 15.2% in plaice, which is significantly less than the norm.

It can be assumed that when bream and bream are affected by the flat helminth *Ligula intestinalis*, a decrease in immune functions is observed due to a decrease in the number of lymphoid cells. Also, the heterogeneity of experimental data on the number of leukocytes in the bloodstream can be evidenced by the fact that leukocytes easily migrate from the circulatory system to the lymphatic system and vice versa, and are also localized in places of inflammation.

### FINDINGS

Thus, the obtained results make it possible to establish that ligulosis of freshwater fish species is a rather dangerous disease, due to which losses of fish products, according to literary sources, can amount to more than 15% [3].

At the same time, the invasion of bream and bream leads to a decrease in their weight and fatness, and irreversible pathological changes in the internal organs are caused due to mechanical pressure and migration of parasites. In addition, there are deviations from the norm in the functioning of the blood of fish.

All of the above can contribute to a decrease in the productivity and level of reproduction of these fish species. Therefore, this issue requires more in-depth research in order to develop the main tasks of limiting and preventing the development of parasitic diseases among the ichthyofauna of the Dnipro Reservoir.

### REFERENCES

1. Vovk N.Y., Buchatsky L.P., PyrusR.I. Ichthyopathological monitoring of internal reservoirs of Ukraine. Problems of ichthyopathy: materials. And All-Ukrainian conference, October 23-27 2001, Kyiv, 2001. p. 31 - 36.
2. Galat V.F., Berezovskyi A.V., and others. Parasitology and invasive diseases of animals: a textbook. Kyiv: Higher Education, 2003. p. 228 - 241.
3. Loot G., The differential effects of *Ligula intestinalis* L. plerocercoids on host growth in three natural populations of roach, *Rutilus rutilus* (L.). Ecology of Freshwater fsh. 2002. № 11. P. 168-177.

SEASONAL CHANGES IN NUTRITIONAL STATUS OF CONVENTIONAL AND ORGANIC  
APPLE ORCHARD

KONVANSİYONEL VE ORGANİK ELMA BAĞÇESİNİN BESLENME DURUMUNDAKİ  
MEVSİMSEL DEĞİŞİKLİKLER

*Cagdas AKPINAR*

*University of Osmaniye Korkut Ata, Kadirli Faculty of Applied Sciences, Department of Organic Farming Management, Kadirli-Osmaniye, Türkiye.*

*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2783-397X>*

**ABSTRACT**

The objective of this study was to determine the nutritional status of organically and conventionally managed apple orchards in different seasons in the Central Anatolia region of Turkey. In this study, the physical and chemical properties of soil samples such as organic matter, phosphorus (P), potassium (K) and plant samples were analysed for P, K, nitrogen (N), zinc (Zn), copper (Cu), manganese (Mn) and iron (Fe).

It was found that N, P, Fe and Zn concentrations in soil samples from conventional orchard were higher in May (spring), while K, Cu and Mn concentrations were higher in organic orchard. It was found that the nutrient concentration in the leaf samples from the conventional apple orchard was higher than in the organic apple orchard.

**Keywords:** apple, organic, conventional, nutrient concentration.

**1. INTRODUCTION**

Apple (*Malus Domestica* Borkh.) is an important fruit species widely grown in the Central Anatolian region of Turkey. In 2019, the total global production of apple plant is 87,236,221 tons and Turkish production is 3,618,752 tons. Turkey ranks third after China and the United States (FAO, 2019).

Due to the increased demand for apples, more chemical fertilizers and pesticides are used in conventional apple orchards. Effective fertilization of fruit trees is crucial for healthy growth and yield (Neilsen & Neilsen, 2003). On the other hand, the positive effects of organic fertilization on the environment and fruit quality are also well known. At the same time, the use of pesticides and chemical fertilizers should be effectively regulated for environmental protection. Due to environmental, economic, and social problems and concerns, interest in organic farming methods is receiving much attention worldwide (Araujo et al., 2008). Agricultural systems that use organic fertilizers can be recommended to increase soil fertility in orchards (Kai et al., 2015). Since decomposition and mineralization of organic matter takes some time, the amount of nutrients in the soil may decrease. Kai & Adhikari (2021) reported in their study that the total N concentration in the leaves of the trees with organic fertilizer application was higher than that of the plants with conventional fertilizer application. However, no difference was observed in total P and total K concentrations. In this study, under similar soil and climatic conditions and in relation to seasons, the nutrient status of organically and conventionally managed apple orchards was compared.

**2. MATERIAL AND METHODS**

**2.1. Materials**

The study was conducted in Kayseri, the central Anatolian region of Turkey. The organic orchard (380 56I 12I N, 360 03I 42I E) is located at 1414 m above sea level. Conventional orchard (380 56I 191 N, 360 03I 431 E), located at 1408 m above sea level.

Some physical, chemical, and biological characteristics of the orchard soils in relation to the seasons are listed in Table 1. The climate of the region is cold and snowy in winter and hot and dry in summer. The highest rainfall occurs in the months of March to June 2018, and the average annual precipitation in Kayseri is 389.3 mm. Both conventional and organic apple orchards are about 8 years old. The conventional apple orchard has been cultivated for 8 years using fungicides, chemical fertilizers and pesticides. The other one is certified as organic apple orchard. In the organic farming system, animal manure is used and pests and diseases are controlled biologically.

In this study, plant and soil samples were collected on July 2018 (summer), October 2018 (fall), and May 2019 (spring), according to the phenological stages of the plants. Samples could not be collected in winter because the plants were dormant and there was snow in the region. Soil samples were collected at different locations at 0-30 cm depth according to the model proposed by Pennock et al. (2007). Similar to the soil samples, leaf samples were taken from different plants representing the orchard depending on the season. The plant and soil samples were analysed in the laboratories of Erciyes and Osmaniye Korkut Ata Universities.

## 2.2. Soil Analysis

Soil texture was determined by the hydrometric method of (Bouyoucos, 1951), pH and EC by the soil-water mixture method (1:1) (McLean, 1982), CaCO<sub>3</sub> content by the Scheibler calcimeter (Horváth et al., 2005), organic matter (OM) (Jackson, 1962) was determined. The available P (kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ha<sup>-1</sup>) in the soil was determined with the ICP device according to Olsen & Sommers (1982).

## 2.3. Plant Analysis

Plant K (%), P (%), Fe (mg kg<sup>-1</sup>), Mn (mg kg<sup>-1</sup>), Zn (mg kg<sup>-1</sup>) and Cu (mg kg<sup>-1</sup>) concentrations were determined in an ICP apparatus (Jones Jr. & Case, 1990) using the dry burning method. Plant N concentrations were determined by the Kjeldahl distillation method (Bremner, 1965).

## 2.4. Statistical Analysis

To determine the differences between the variations of soil and plant parameters (ANOVA), analyses and correlation analyses were carried out using SPSS (20.0) for the Windows programme.

# 3. RESULTS AND DISCUSSION

## 3.1. Soil Properties of the Conventional and Organic Land

The data of the soil samples taken from conventional and organic orchards at different times are shown in Table 1. Depending on the seasons, both orchards have a clay loam structure. Soil texture is of great importance for plant nutrient uptake as it affects soil nutrient uptake (Gaines & Gaines, 1994), cation exchange capacity (Hepper et al., 2006) and organic matter content (Bechtold & Naiman, 2006). As fertilisation was carried out in the conventional orchard, soil pH and CaCO<sub>3</sub> levels fluctuated depending on the season (Table 1).

During the summer months, there was a decrease in OM due to the lack of organic matter in the conventional practise. It was found that the highest organic matter content was 1.53% OM in the organic apple orchard in July (Table 1). It has been suggested that the possible reason for this is the overuse and accumulation of organic inputs in organic production systems. Karlıdağ et al. (2019) measured soil organic matter content in samples from apple orchards varying from % 0.14 to 2.72 OM at a depth of 0-30 cm. When the P contents of the orchard soils were examined, the highest P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> content was found to be 61.9 kg ha<sup>-1</sup> P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> in the soil sample from the organic orchard in July. The higher K<sub>2</sub>O content was found in the organic orchard soils (383.7 kg ha<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>O). In a similar study, the total K<sub>2</sub>O content was found to be higher in the soil of the apple orchard with organic fertiliser than in the soil of the apple orchard with conventional fertiliser (Kai & Adhikari, 2021). Kai & Kubo (2020) also reported that the carbon, nitrogen, phosphorus and potassium content as well as microbial activity were higher in the soil of organically managed apple orchards. Karlıdağ et al. (2019) studied apple orchards and found that the P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> content of the soils ranged from 7.0 to 394.7 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ha<sup>-1</sup> at a depth of 0-30 cm and the exchangeable K<sub>2</sub>O content ranged from 117.0 to 1008.0 kg K<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup>. The high P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> and K<sub>2</sub>O contents in the soils may be due to the late mineralization of the organic inputs applied in the organic orchard.



**Table 1.** Soil properties of conventional and organic orchards in 2018-2019

Soil	Unit	Conventional			Organic		
		July	October	May	July	October	May
Clay		383	380	382	347	343	350
Silt	g kg <sup>-1</sup>	297	295	300	358	351	358
Sand		320	325	318	295	306	292
pH	H <sub>2</sub> O	8.0	7.6	7.5	7.9	7.6	7.6
Salinity		0.02	0.01	0.02	0.02	0.04	0.03
CaCO <sub>3</sub>	%	47.8	43.9	41.8	46.1	33.1	38.7
O.M		1.11	1.34	1.22	1.53	1.31	1.42
P	kg ha <sup>-1</sup>	52.7	59.6	51.5	54.4	61.9	58.8
K		320.7	315.6	317.2	368.6	383.7	351.2

Three replications average  $\pm$ ds

### 3.2. Nutrient Concentrations of Apple Leaf

The N, P, and K concentrations of leaf samples from conventional and organic apple orchards as a function of seasons are shown in Table 2. The highest N concentration in leaves was found to be 3.35% N in May in the conventional orchard and 3.24% N in May in the organic orchard. The lowest values were determined in both orchards in October at the onset of winter. Karlıdağ et al. (2019) reported in a study conducted in Malatya province that the concentration of apple leaves ranged from 1.78-2.68 % N and 0.14-0.32% P.

Plant leaf P concentrations in the conventional orchard varied between 0.23-0.38% P and in the organic orchard between 0.20 and 0.32% (Table 2). K concentrations were also higher in the plants in the conventional orchards. The highest K concentration was measured in the conventional orchard with 2.35% K in the samples taken in July and the lowest with 1.88% K in October. The K concentration in the organic orchard varies between 2.02% and 2.22 K. The high content of N, P and K fertiliser in the conventional soil is due to the continuous application of mineral fertiliser to this soil, so that the plants benefit more from these nutrients. There was also no significant difference in the concentrations of total N, total P and total K in fruit samples from apple orchards where organic and conventional fertilisers were applied (Kai & Adhikari, 2021). Gasparatos et al. (2011) found that N, P and K concentrations in leaves of organic apple orchard were 2.38%, 0.15 and 1.99%, respectively, and 2.87%, 0.16 and 1.43% in conventionally grown crops. However, Holb & Nagy (2009) had previously found that N uptake was similar in both farming systems.

**Table 2.** N,P,K concentration of conventional and organic apple orchards

Applicatons	Time	N	P	K
Conventional	July	3.12 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.36 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	2.35 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>
	October	2.65 $\pm$ 0.04 <sup>bc</sup>	0.23 $\pm$ 0.02 <sup>bc</sup>	1.88 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>
	May	3.35 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	0.38 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	2.10 $\pm$ 0.02 <sup>bc</sup>
Organic	July	3.04 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	0.31 $\pm$ 0.03 <sup>ab</sup>	2.15 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>
	October	2.40 $\pm$ 0.08 <sup>c</sup>	0.20 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	2.02 $\pm$ 0.04 <sup>cd</sup>
	May	3.24 $\pm$ 0.09 <sup>ab</sup>	0.32 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	2.22 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>
	fd			
Application (A)	1	P<0.001	P<0.001	P<0.001
Time (T)	2	P<0.001	P<0.001	P<0.303
AxT	2	P<0.039	P<0.347	P<0.001

Mean of three replicates and  $\pm$  is a standard error

The results of the concentration of microelements in the leaf samples of organic and conventional orchards are shown in Table 3. When the Fe results were examined, the highest Fe concentration, 94.4 mg kg<sup>-1</sup> Fe, was found in the samples taken in May from the conventional orchard. The Zn results were similar to the Fe results with 19.3 mg kg<sup>-1</sup> Zn in the May samples from the conventional orchard. Gastol & Domagala-Światkiewicz (2015) found that the Zn concentration in the leaves of the plant was 66.1 mg Zn kg<sup>-1</sup> in apple orchard applications. It was found that the Cu concentration in the samples from the organic orchard was higher than in the conventional orchard (18.8 mg kg<sup>-1</sup> Cu). It is assumed that the use of Cu-containing fungicides in organic farming for biological control may increase the Cu concentration in the leaves of the plants. Gastol & Domagala-Światkiewicz (2015) found in their study that the biofertilisers studied increased the P, K and Cu leaf concentrations of apple leaves when they applied different amendments to the apple orchard.

Mn concentration was found to vary in the range of 35.5-50.1 mg kg<sup>-1</sup> Mn in the conventional orchard and 42.4-57.7 mg kg<sup>-1</sup> Mn in the organic orchard (Table 3). The seasonal variation of nutrient elements in leaves is due to the fact that plants require different amounts of nutrients in each sampling period (Holb & Nagy, 2009). Both application methods and sampling times in orchards have a statistically significant effect on Fe, Zn, Cu and Mn concentrations in apple leaves ( $P < 0.001$ ). Gasparatos et al (2011) reported in their study that Fe, Mn, Cu and Zn concentrations in the leaves of plants in the organic apple orchard were determined to be 76.7, 88.6, 205.1 and 21.9 mg kg<sup>-1</sup>, respectively, and 82.6, 116.3, 117.2 and 30 mg kg<sup>-1</sup> in the conventionally grown plants. The results show that although there is a statistical difference in leaf macro- and micronutrient concentrations between conventionally and organically grown apple trees, there is no difference in nutrient concentrations between orchards. In general, Zn concentrations are below the critical value in both organic and conventional orchards (Jones & Case 1998).

**Table 3.** Fe, Zn, Cu and Mn concentrations in conventional and organic apple orchards

		Fe	Zn	Cu	Mn
		mg kg <sup>-1</sup>			
<b>Conventional</b>	<b>July</b>	88.1 ±0.10 <sup>b</sup>	18.1 ±0.75 <sup>ab</sup>	14.5 ±0.40 <sup>cd</sup>	35.5 ±2.45 <sup>e</sup>
	<b>October</b>	70.5 ±0.16 <sup>e</sup>	14.4 ±0.75 <sup>d</sup>	12.3 ±0.55 <sup>e</sup>	50.1 ±1.50 <sup>b</sup>
	<b>May</b>	94.4 ±1.15 <sup>a</sup>	19.3 ±0.85 <sup>a</sup>	16.6 ±0.50 <sup>b</sup>	36.6 ±2.80 <sup>de</sup>
<b>Organic</b>	<b>July</b>	76.6 ±2.90 <sup>d</sup>	16.5 ±0.35 <sup>bc</sup>	15.7 ±0.80 <sup>bc</sup>	44.6 ±1.05 <sup>bc</sup>
	<b>October</b>	64.6 ±1.15 <sup>f</sup>	12.3 ±0.85 <sup>e</sup>	13.5 ±1.15 <sup>de</sup>	57.7 ±2.50 <sup>a</sup>
	<b>May</b>	82.3 ±2.55 <sup>c</sup>	15.5 ±0.35 <sup>cd</sup>	18.8 ±0.70 <sup>a</sup>	42.4 ±2.85 <sup>cd</sup>
<b>fd</b>					
<b>Application (A)</b>	<b>1</b>	$P < 0.001$	$P < 0.001$	$P < 0.001$	$P < 0.001$
<b>Time (T)</b>	<b>2</b>	$P < 0.001$	$P < 0.001$	$P < 0.001$	$P < 0.001$
<b>AxT</b>	<b>2</b>	$P < 0.016$	$P < 0.045$	$P < 0.393$	$P < 0.474$

Mean of three replicates and ± is a standard error

### 3.3. Correlation values

According to the correlation table, a positive correlation was found between soil CaCO<sub>3</sub> concentration and pH ( $r:0.747$  and  $p < 0.01$ ) (Table 4). A negative correlation was found between soil P content and CaCO<sub>3</sub> content ( $r:-0.498$  and  $p < 0.05$ ). In addition, soil P content and plant K concentration ( $r:0.710$  and  $p < 0.01$ ), Fe concentration ( $r:0.960$  and  $p < 0.01$ ), Zn concentration ( $r:0.905$  and  $p < 0.01$ ), Cu ( $r:0.654$  and  $p < 0.01$ ) and a negative correlation was found between Mn concentration ( $r:-0.903$  and  $p < 0.01$ ). However, a positive correlation was found between soil K content and organic matter content ( $r:0.734$  and  $p < 0.01$ ). Karlıdağ et al. (2019) reported that there is a positive correlation between K content of apple orchard soils and leaf Mn concentration.

**Table 4.** Correlation values of the parameters assessed in the study

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1.Clay	1															
2.Silt	-.957**	1														
3.Sand	.794**	-.931**	1													
4.pH	.128	-.027	-.082	1												
5.Salinity	-.633**	.617**	-.471*	-.009	1											
6.CaCO <sub>3</sub>	-.574*	-.481	-.266	.747**	-.526*	1										
7.Org. M.	-.640**	.620**	-.546*	-.040	.243	-.075	1									
8.Soil P	-.423	-.278	-.028	-.262	-.317	-.498*	.159	1								
9.Soil K	-.926**	.880**	-.693**	-.012	.734**	-.517*	-.378*	.419	1							
10.N	.356	-.082	-.263	.202	-.318	.469*	-.085	-.521*	-.405	1						
11.P	.474*	-.209	-.123	.321	-.290	.517*	-.280	-.604**	-.441	.937**	1					
12.K	.076	.161	-.413	.640**	-.211	.383	-.206	-.369	.001	.642**	.710**	1				
13.Fe	.600**	-.351	.020	.170	-.334	.475*	-.368	-.621**	-.569*	.925**	.960**	.622**	1			
14.Zn	.631**	-.409	.093	.285	-.446	.609**	-.373	-.793**	-.631**	.831**	.905**	.514*	.918**	1		
15.Cu	-.211	.450	-.681**	-.065	.101	-.041	.214	-.113	.117	.781**	.654**	.555*	.587*	.380	1	
16.Mn	-.586*	.353	.003	-.364	.460	-.607**	.352	.772**	-.616**	-.865**	-.903**	-.654**	-.903**	-.921**	-.451	1

\*\* : P < 0.01, \* : P < 0.05

#### 4. CONCLUSIONS

The conventional apple orchard has a higher nutrient content than the organic apple orchard, which is due to the rapid conversion of mineral fertiliser into available forms. According to our results, due to the low mineral content of the organic orchard, attention should be paid to the amount and composition of inputs to be applied. It was observed that the nutrient content decreases with the onset of the winter period due to the slowing down of physiological activity.

Both management systems had a statistically significant effect on macro and micronutrient concentrations. Regardless of how close together the apple orchards are, different farming practices can affect productivity differently under the same climate and soil conditions.

#### Acknowledgements

I would like to thank Mr Murat Çadır for his valuable assistance in this study.

#### 5. REFERENCES

- Araujo, A., Santos, V.B., & Monteiro, R.T. (2008). Responses of soil microbial biomass and activity for practices of organic and conventional farming systems in Piauí state, Brazil. *The European Journal of Soil Biology*, 44, 225-230.
- Bechtold, J.S., & Naiman R.J. (2006). Soil texture and nitrogen mineralization potential across a riparian toposequence in a semi-arid savanna. *Soil Biology & Biochemistry*, 38, 1325-1333.
- Bouyoucos, G.J. (1951). A recalibration of the hydrometer method for making mechanical analysis of soils. *Agronomy Journal*, 43, 434-438.
- Bremner, J.M. (1965). Total Nitrogen. *Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties*. Norman, A.G. (Ed.).
- Fao (2019). [www.fao.org](http://www.fao.org)
- Gaines, T.P., & Gaines S.T. (1994). Soil texture effect on nitrate leaching in soil percolates. *Communications in Soil Science & Plant Analysis*, 25, 2561-2570.
- Gasparatos, D., Roussos, P., Christofilopoulou, E., & Haidouti, C. (2011). Comparative effects of organic and conventional apple orchard management on soil chemical properties and plant mineral content under Mediterranean climate. *Journal of Soil Science & Plant Nutrition*, 11, 105-117.
- Gastol, M., & Domagala-Świątkiewicz, I. (2015). Mycorrhizal inoculation of apple in replant soils-Enhanced tree growth and mineral nutrient status. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 14;4, 17-37.

- Hepper, E.N., Buschiazzo, D.E., Hevia, G.G., Urioste, A., & Antón, L. (2006). Clay mineralogy, cation exchange capacity and specific surface area of loess soils with different volcanic ash contents. *Geoderma*, 135, 216-223.
- Holb, I.J., & Nagy, P.T (2009). Availability of calcium, magnesium, sulfur, copper, zinc, and manganese in the plant–soil system of integrated and organic apple orchards. *Communications in Soil Science & Plant Analysis*, 40, 682-693.
- Horváth, B., Opara-Nadi, O., & Beese, F. (2005). A simple method for measuring the carbonate content of soils. *Soil Science Society of America Journal*, 69,1066-1068.
- Jackson, M.L. (1962). *Soil chemical analysis* prentice. Hall, Inc. 183, 219-284.
- Jones Jr., J.B. & Case, V.W. (1990). Sampling, handling, and analyzing plant tissue samples. *Soil Testing & Plant Analysis*, 389-427.
- Kai, T., & Adhikari, D. (2021). Effect of organic and chemical fertilizer application on apple nutrient content and orchard soil condition. *Agriculture*, 11, 340.
- Kai, T., & Kubo. M. (2020). Chemical and biological properties of apple orchard soils under natural, organic, hybrid, and conventional farming methods. *Journal of Agricultural Chemistry & Environment*, 9, 134-146.
- Kai, T., Masaki, M., Araki, K., Adhikari, D., & Kubo, M. (2015). Physical and biochemical properties of apple orchard soils of different productivities. *Journal of Soil Science*, 5: 149-156.
- Karlıdağ, H., Karaat, F., Kan, T., Kutsal, I., & Yıldırım, H. (2019). Determination of nutrition status of apple orchards in doğanşehir, Malatya. *Alinteri Ziraat Bilimler Dergisi*,39;1,9-14
- McLean, E.O. (1982). Soil pH and lime requirement; *Methods of Soil Analysis, Part 2. Agronomy*, 199-224.
- Neilsen, G.H., & Neilsen, D. (2003). Nutritional requirements of apple *Apples: Botany, Production and Uses*. 267-302.
- Olsen, S. R., & Sommers, L. (1982). Phosphorus *Methods of Soil Analysis Part. 2: Chemical and microbiological properties*. 403-430.
- Pennock, D., Yates, T., & Braidek, J. (2007). *Soil Sampling Designs. Soil Sampling and Methods of Analysis*: 1-14.

**MACROANATOMIC AND MORPOMETRIC INVESTIGATION OF THE BROWN BEAR  
HUMERUS**

**BOZ AYI HUMERUS'UNUN MAKROANATOMİK VE MORFOMETRİK OLARAK  
İNCELENMESİ**

**Gülseren KIRBAŞ DOĞAN<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Kafkas University, Veterinary Faculty, Department of Anatomy, Kars, Turkey.*

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3770-9956>

**İftar GÜRBÜZ<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>*Mehmet Akif Ersoy University, Veterinary Faculty, Department of Anatomy, Burdur, Turkey.*

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9460-0645>

**Yasin DEMİRASLAN<sup>3</sup>**

<sup>3</sup>*Mehmet Akif Ersoy University, Veterinary Faculty, Department of Anatomy, Burdur, Turkey.*

<sup>3</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3612-6142>

**ABSTRACT**

Brown bears are in the genus carnivora, the family Ursidae, the species Ursus arctos, the subspecies horribilis. Humerus is a large bone surrounded by strong muscles located between the scapula and the skeleton antebrachii. In this study, humerus bones of 3 male brown bear cadavers were used. In the brown bear, tuberositas deltoidea was a prominent protrusion. Crista humeri was macroanatomically prominent. The heights of tuberculum majus, tuberculum minus and caput humeri were almost at the same level. Facies musculi infraspinati had a more or less distinctly rough face. Total humerus length was 335 mm. The mean of the smallest width of the diaphysis was measured as 32.50 mm. The greatest width at the proximal end was 83.18 mm, and the greatest width at the distal end was 103.41 mm. Tuberculum majus and tuberculum minus were in one piece. In this study, it was aimed to determine the morphometric and macro anatomical findings of the humerus, one of the body bones of the brown bear. Brown bears, especially in the Eastern Anatolia Region (around Sarıkamış); this study was designed to compare and anatomically evaluate animals of the same species living under the influence of other countries, regions and climates. It is thought that the presented study will contribute to scientific and archaeological studies on a similar subject.

**Keywords:** Anatomy, humerus, morfometry.

**1. INTRODUCTION**

Brown bears are the largest land carnivores. They were classified in the genus Carnivora, the family Ursidae, the Ursus arctos species, the subspecies horribilis. There are 8 types. They have a large head, a long nose, and a strong jaw. They have robust and barrel-shaped bodies and short but strong legs. It is important in the formation of the humpback majesty formed by the muscle mass on the shoulders. There are 7 subspecies of the brown bear. They are distinguished by their fur color and body size. They have a better sense of smell and a longer mouth than black bears. Mouth shape and size are related to eating habits (Mammal Anatomy: An Illustrated Guide, Marshall Cavendish Corporation, 104-112, 2010).

The humerus is located between the scapula and the forearm bones (Demiraslan and Dayan 2021). In proximal, the scapula and humerus together with the shoulder joint form the basis of the shoulder and upper arm. Distally, the humerus participates in the formation of the elbow joint. In a healthy animal, the acromion at the distal end of the spina scapula and the tuberculum majus of the humerus distal to it can be easily felt. (Dyce et al. 1996). The surface of the humerus has a characteristic feature thanks to

the attachment of strong muscles and tendons that fit into the grooves and bone protrusions. (König and Liebich 2015).

In this study, it was aimed to determine the morphometric and macro anatomical findings of the humerus, one of the body bones of the brown bear. Morphological and morphometric studies both reflect the contribution of environmental components and genetics in individual development and form the basis of clinical and surgical practices (Wehausen and Ramey 2000). Although there are previous studies on brown bears, especially by archaeologists, no study by anatomists has been found in our country. Brown bears, especially in the Eastern Anatolia Region (around Sarıkamış); This study was designed to compare and anatomically evaluate animals of the same species living under the influence of other countries, regions and climates.

## 2. MATERIAL AND METHOD

Three male brown bear cadavers were used, which were brought to the Kafkas University Wildlife Rescue and Rehabilitation Center as dead or were brought for treatment and could not be saved despite all the interventions. The necessary permission for this study was obtained by the Ministry of Agriculture and Forestry (E.2242114/2018). After the muscles on the surface of the bones were dissected, they were macerated by boiling with 10-15% NaHCO<sub>3</sub> solution. After being kept in 10% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solution, it was left to dry in the sun. All bones were measured one by one using a digital caliper (0.00, BTS, UK) (Driesch 1976). Measurements were made based on Driesch (1976). N.A.V (2017) was used for anatomical terms.

## 3. RESULTS

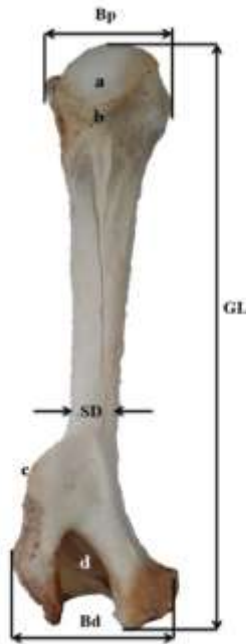
The forelimb bones consist of scapula, humerus, antebrachium (radius-ulna), ossa carpi, ossa metacarpalia I-V, ossa digitorum manus. During the dissection procedure, it was observed that the muscles that mediate the attachment of the front leg to the body were structurally stronger in brown bears. This is thought to be due to the massive weight of the front leg. Humerus (arm bone) had two ends, extremitas proximalis and extremitas distalis. In the extremitas proximalis of this bone, the caput humeri was the largest prominent articular prominence. It was seen that caput humeri has two projections named tuberculum majus from craniolateral and tuberculum minus from craniomedial. Between these two projections was the sulcus intertubercularis. The narrowing neck region just distal to the caput humeri was the collum humeri. Collum humeri was very prominent. Tuberculum majus and tuberculum minus were in one piece. The heights of tuberculum majus, tuberculum minus and caput humeri were almost at the same level. Facies musculi infraspinati had a more or less distinctly rough face. There was tuberositas deltoidea lateral to the proximal end and medial to the corpus humeri. This formation extended towards the crista humeri. Crista humeri was macroanatomically prominent. The distal end of the humerus was shaped by the trochlea humeri formed by the condylus lateralis and condylus medialis. There was a hole called fossa radialis on the dorsocranial of condylus humeri. The cavity on the dorsocaudal of condylus humeri was fossa olecrani. It was delimited from the fossa olecrani lateral by epicondylus medialis and epicondylus lateralis.



**Figure 1:** Dorsolateral view of humerus in brown bear (a: tuberculum minus, b: tuberculum majus, c: sulcus intertubercularis, d: corpus humeri, e: collum humeri, h: fossa radii, h1: condylus medialis, h2: condylus lateralis, h1+h2: trochlea humeri, h3: epicondylus medialis)

**Table 1.** Some parameters of brown bear humerus

		GL	Bp	Bd	SD
<b>B1</b>	Right	335,12	86,04	103,70	31,40
	Left	345,60	81,47	104,83	32,78
<b>B2</b>	Right	325,63	84,05	101,94	32,28
	Left	326,12	81,86	102,73	31,79
<b>B3</b>	Right	330,31	83,11	104,15	33,03
	Left	325,65	82,59	103,15	31,59



**Figure 2:** Image of humerus caudal in brown bear (GL: greatest length, Bp: greatest width at proximal end, Bd: greatest width at distal end, SD: smallest width of diaphysis, a: çaput humeri, b: collum humeri, c: crista supracondylaris lateralis, d: fossa olecrani)

#### 4. DISCUSSION

The humerus is a long, thick bone that forms the basis of the arm. It is surrounded by strong muscles and thick beams run over it. It is strong enough to take the body load and resist strong muscle actions (Bahadır and Yıldız 2014).

In otters, tuberositas deltoidea is in crista form (Yılmaz et al. 1999). In the brown bear, tuberositas deltoidea was not crista. It was in a prominent position. The total length of the humerus in the cheetah was 277 mm (Roşu et al. 2016), while it was 335 mm in the bear. Although the heights of tuberculum majus and minus are almost at the same level in brown bears, it has been reported that tuberculum majus is higher and curved towards tuberculum minus in pigs (Karan 2012). It has been reported that the tuberculum majus and caput humeri are at the same level in lynxes (Karan et al. 2016). It was determined that the tuberculum majus and caput humeri were at the same level in the brown bear. The hole named foramen supracondylare found in cats (Dursun 2008) and lynx (Karan et al. 2016) on the epicondylus medialis in the distal humerus was absent in the brown bear. In otters, the epicondyluses expand to the sides and take the form of a fan, and there is a foramen supracondylare (Yılmaz et al. 1999). The hole called foramen supratrochleare, formed by the fusion of fossa radialis and fossa olecrani in the dog (Dursun 2008), was also absent in the brown bear. It has also been reported that the foramen supratrochleare at the distal end of the humerus is found in pigs (Karan 2012). It has been reported that an epitrochlear cavity is seen above the medial lip of the trochlea in the cheetah (Roşu et al. 2016). The crista humeri of the humerus is prominent in the dog (Zietzschmann et al. 1977). Like Zietzschmann et al. (1977), it was observed that crista humeri was prominent in the present study. In a study (Gültekin and Uçar 1980), it is reported that the part of the crista humeri located in the distal part of the tuberositas deltoidea is prominent in dogs and foxes, but not in golden jackals. Tuberculum majus is higher in foxes than in wolves and dogs. Trochlea humeri is deepest in wild dog species (Hildebrand 1954). Although the facies musculi infraspinati of the humerus in the dog is notched and deep, the same place is less flat in the wolf and flat in the fox. In the brown bear of this region was a vaguely rough. In the wolf and fox, there is a prominent protrusion on the crista humeri just distal to the tuberculum majus. This protrusion is not seen in the dog (Girgin et al. 1988). Similarly, there was no brown bear.

#### 5. CONCLUSION

In this study, it was aimed to determine the morphometric and macroanatomical findings of the humerus, one of the body bones of the brown bear. This study was carried out in order to compare and anatomically evaluate the bones of brown bears living in the Eastern Anatolia Region (around Sarıkamış) and the same species of animals living under the influence of other countries, regions and climates. It is thought that the presented study will contribute to scientific and archaeological studies on a similar subject.

#### 6. REFERENCES

- Bahadır, A., & Yıldız, H. (2014). Veteriner Anatomi, Hareket sistemi & iç organlar. Ezgi kitabevi, 1-90.
- Dursun, N. (2008). Veterinary Anatomy III, medisan publication, Ankara, 150-160.
- Dyce, K.M., Sack, W.O., & Wensing, C.J.C. (1996). Textbook of veterinary anatomy, 2nd edn. Philadelphia, London, New York, St. Louis, Sydney, Toronto: W.B. Saunders Company.
- Evans, H.E., & de Lahunta, A. (2013). Millers Anatomy of the Dog. Fourth edition WB Saunders Company, Philadelphia, 746-770.
- Girgin, A., Karadağ, H., & Temizer, A. (1988). Kurt (*Canis lupus*) ve tilki (*Canis vulpes*) kemiklerinin iskelet yerli köpeğinkilerine (*Canis familiaris*) göre gösterdikleri makroanatomik ayrımlar üzerine araştırmalar. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 4 (1), 169- 182.
- Gültekin, M., & Uçar, Y. (1980). Yerli tilki (*Canis vulpes*) ve Çakal (*Canis aureus*) iskelet kemiklerinin yerli köpeğinkilerine (*Canis familiaris*) göre gösterdikleri makroanatomik ayrımlar üzerine araştırmalar, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi.



- Hildebrand, M. (1954). Comparative morphology of the body skeleton in recent Canidae. University of California Publications in Zoology, 52, 379-470.
- Karan, M., Yılmaz, S., & Baygeldi, S.B. Vaşaklarda (*Lynx lynx*) ön bacak kemiklerinin makroanatomik olarak incelenmesi. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi 2016; 30 (2): 103 - 105
- Karan, M., (2012). Yaban Domuzlarında (*Sus scrofa*) Ön Bacak Kemiklerinin Makro-Anatomik Olarak İncelenmesi. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi, Cilt 26, Sayı 1, Sayfa(lar) 017-020
- König, H.E. & Liebich, H.G. (2015). Veteriner Anatomi (Evcil Memeli Hayvanlar), Medipres, 6. baskı, 579-600.
- Roşu, P.M., Predoi, G., Belu, C., Georgescu, B., Dumitrescu, I., & Raita, Ş.M. (2016). Morphometric biodiversity in cheetah thoracic limb bones: A case study. Scientific Works. Series C. Veterinary Medicine. Vol. LXII (1).
- Mammal Anatomy: An Illustrated Guide, Marshall Cavendish Corporation., 2010. 104-112,.
- N.A.V. 2017. International Committee on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature. Nomina Anatomica Veterinaria (NAV). 6th ed., World Association of Veterinary Anatomists, Hanover (Germany), Ghent (Belgium), Columbia, MO (U.S.A.), Rio de Janeiro (Brazil)
- Özcan, S., & Demiraslan, Y. 2021. Veteriner Sistematik Anatomi. Ed: Demiraslan, Y., Dayan, M.O., Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 75- 80.
- Yılmaz, S., Dinç, G., & Özdemir, D. (1999). Su samuru (*Lutra lutra*) iskelet sistemi üzerinde makroanatomik araştırmalar I. Ossa Membri Thoracici. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi.
- Von Den, Driesch A. (1976). A guide to the measurement of animal bones from archaeological sites. Peabody Museum Bulletin I. Cambridge M.A. Harvard University, 31-34.
- Wehausen, J.D., & Ramey, R.R. (2000). Cranial morphometric and evolutionary relationships in the northern range of *Ovis canadensis*. Journal of Mammal, 81: 145-161.
- Zietzschmann, O., Ackerknecht, E. & Grau, H. 1977. EllenbeJger-Baum, Handbw.:h der vergleichenden. Anatomie der Haustiere, 18.

**GENOTOXIC ASSESSMENT OF AMOXICILLIN IN RAINBOW TROUT (*Oncorhynchus mykiss*) BY COMET ASSAY AND MICRONUCLEUS TEST**

**GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARI (*ONCORHYNCHUS MYKISS*) ÜZERİNDE AMOKSİSİLİNİN GENOTOKSİK ETKİSİNİN COMET YÖNTEMİ VE MİKRONÜKLEUS TESTİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Ceren ANLAS<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Istanbul University- Cerrahpasa, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pharmacology and Toxicology, Istanbul, Turkey.*

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7997-016X>

**Oya USTUNER<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>*Istanbul University- Cerrahpasa, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pharmacology and Toxicology, Istanbul, Turkey.*

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4354-8207>

**ABSTRACT**

Contamination of aquatic ecosystems with genotoxic compounds is not only a serious environmental problem but also a very crucial problem in terms of human health, considering consumption of aquatic products as a food source in human nutrition. Previous studies have shown that compounds used to treat and prevent fish diseases may induce genetic alterations on target fish species. Amoxicillin is a beta lactam derivative antibiotic frequently used for the treatment of many systemic bacterial infections (furunculosis, rainbow trout fry syndrome, lactococcus, etc.) in aquaculture. Due to its low absorption from the intestinal tract, amoxicillin is administered to fish at doses approximately 5 times higher than to mammals to reach effective blood concentration. The genotoxic effect of amoxicillin in mammals has been previously investigated by several genotoxicity test systems and controversial results have been reported. On the other hand, extremely limited data have been reported on the genotoxic effect of amoxicillin on fish species. In this direction, this study aimed to investigate the potential genotoxic effect of amoxicillin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by *in vivo* micronucleus test and comet assay. In this direction, blood samples were taken at regular intervals from fish exposed to different doses of amoxicillin (80-160 and 320 mg/kg) for 10 days and the specified tests were applied. The percentage of DNA in the tail was taken as a basis for the evaluation of the comet assay. No statistically significant increase was observed in the comet and micronucleus frequency of the groups treated with 80 mg/kg and 160 mg/kg of amoxicillin when compared with the control group. On the other hand, it was determined that amoxicillin at a dose of 320 mg/kg may cause DNA damage in fish erythrocytes. Both test systems detected the highest DNA damage on the 6<sup>th</sup> day. The results of the study indicate that high doses of amoxicillin may cause DNA damage in rainbow trout erythrocytes.

**Keywords:** Amoxicillin, genotoxicity, rainbow trout, comet assay, micronucleus test

**1. INTRODUCTION**

Chemotherapeutic agents have been frequently used treatment options to prevent or treat fish diseases in aquaculture for many years (Cavas et al., 2005; Jerbi et al., 2011). In addition to the widespread use of chemotherapeutics in aquatic ecosystems, there are also many scientific studies confirming the toxicity potential of these compounds on living organisms (Rocco et al., 2012; Jerbi et al., 2011). These studies have shown that compounds used to treat or prevent fish diseases can exhibit genotoxic effects by inducing genetic alterations on target fish species. It is known that genotoxic agents used in aquacultures cause hereditary changes in DNA, causing adverse effects in future generations, as well as affect reproduction by the loss of gamete or the rate of embryo mortality (Rocco et al., 2012). Therefore,

it is very crucial to evaluate the genotoxicity potential of drugs used in aquaculture on target aquatic organisms. On the other hand, considering the importance of fish in human nutrition, monitoring the effects of genotoxic substances on fish DNA is also of great importance in terms of human health.

Amoxicillin is considered the most important penicillin derivative antibiotic applied in aquaculture and is frequently used to treat or control serious bacterial infections (Langin et al., 2009; Ozturk et al., 2013). Despite the widespread use of amoxicillin in the aquatic ecosystem, scientific data on its genotoxicity potential on aquatic organisms are extremely limited. On the other hand, controversial results have been reported in studies investigating the genotoxicity potential of amoxicillin on mammalian species with various genotoxicity test systems.

In this context, the present study was conducted to investigate the genotoxicity potential of amoxicillin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in *in vivo* conditions. The genotoxicity potential of amoxicillin on rainbow trout was investigated by micronucleus test and single-cell gel electrophoresis assay (comet assay), which are highly sensitive methods for the evaluation of genotoxic activity.

## 2. MATERIAL AND METHODS

### 2.1. Experimental Design

The experimental protocol was approved by Istanbul University Animal Experiments Native Ethical Committee (Protocol number 136). In this study, 150 adults, healthy rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with an average body weight of 40-60 g. were used. Fish were randomly divided into 5 experimental groups of 30 fish per group. The doses of amoxicillin to be used in genotoxicity assessment were selected according to the therapeutic protocol (80-160 mg/kg body weight for 10 days) in fish species (Armstrong et al., 2005). In this context, treatment groups were with fed rainbow trout pellets containing both therapeutic doses (80-160 mg/kg bw) and higher doses (320 mg/kg bw) of amoxicillin for 10 days. On the 3<sup>rd</sup>, 6<sup>th</sup>, and 10<sup>th</sup> days, peripheral blood samples were obtained from the caudal vein of 10 fish from each group, and genotoxicity analyses were performed. Cyclophosphamide (4 mg/L) was used as a positive control for the genotoxic effect.

### 2.2. Comet Assay

The comet assay was performed according to the protocol reported by Cavas and Konen (2008) with slight modifications. A few microliters of blood samples were diluted with 1 mL of cold phosphate-buffered saline (PBS). Sixty microliters of diluted sample were mixed with 200 µL of 0.65 % low melting point (LMP) agarose. Seventy-five microliters of the mixture were spread onto slides previously coated with 1 % normal melting point (NMP) agarose. The slides were immediately covered with a coverslip and kept in 4°C for 10-15 minutes to solidify agarose. Then, coverslips were carefully removed and the slides were immersed in cold lysing solution (2.5 M NaCl, 100 mM Na<sub>2</sub>EDTA, 10 mM Tris, pH 10 with 10 % dimethyl sulfoxide and 1% Triton- X- 100) for at least 1 hour, at 4°C. Afterward, the slides were placed on a horizontal electrophoresis tank filled with fresh electrophoresis solution (1mM Na EDTA, 300 mM NaOH, pH 13.5) and left in the solution for 20 minutes to allow the unwinding. Then, electrophoresis was performed at 25 V and 300 mA for 30 minutes. After the electrophoresis, the slides were rinsed three times with a neutralization solution (0.4 M Tris buffer at pH 7.5) for 5 minutes and stained with ethidium bromide (75 µL). Slides were viewed under a fluorescence microscope (Olympus BX51, Olympus Optical Co. Ltd, Japan) and comet tails were analyzed using specific software (Bs 200 Pro, BAB Imaging System, Ankara, Turkey). At least 100 cells were counted in three replicated slides per sample to characterize DNA damage. The percentage of DNA in the tail of comets (% tail DNA) was used as the parameter of DNA damage.

### 2.3. Micronucleus Test

The micronucleus test was performed according to the method described by Al-Sabti and Metcalfe (1995). Blood samples were obtained from the caudal vein and immediately smeared onto precleaned slides. After fixation in pure ethanol for 20 minutes, slides were left to air-dry and stained with 10 % Giemsa solution for 25 minutes. Three slides were prepared for each fish and 2000 erythrocytes were scored from each slide under an Olympus CX31 microscope with x100 magnification. Small, non-refractive, circular, or ovoid chromatin bodies displaying the same staining and focusing pattern as the main nucleus were scored as micronucleus.

## 2.4. Statistical Analysis

Statistical differences within groups at different exposure times were determined by repeated measurement of ANOVA, whereas differences between groups at each exposure time were compared by one-way ANOVA and Duncan's test in both experiments. Results were expressed as the mean of triplicates  $\pm$  standard error (SE). The level of statistical significance was established at  $P < 0.05$ .

## 3. RESULTS AND DISCUSSION

The results of the comet assay are presented in Table 1 and representative images of comet tail formation in each experimental group are shown in Figure 1. No significant increase was observed in the groups treated with 80 and 160 mg/kg bw of amoxicillin with respect to the negative control group ( $p > 0.05$ ). On the other hand, there was a statistically significant increase in the % tail DNA values of the group treated with the highest dose of amoxicillin (320 mg/kg bw) compared to the control group at all exposure times. The highest DNA damage was observed on the 6<sup>th</sup> day, in the 320 mg/kg bw group.

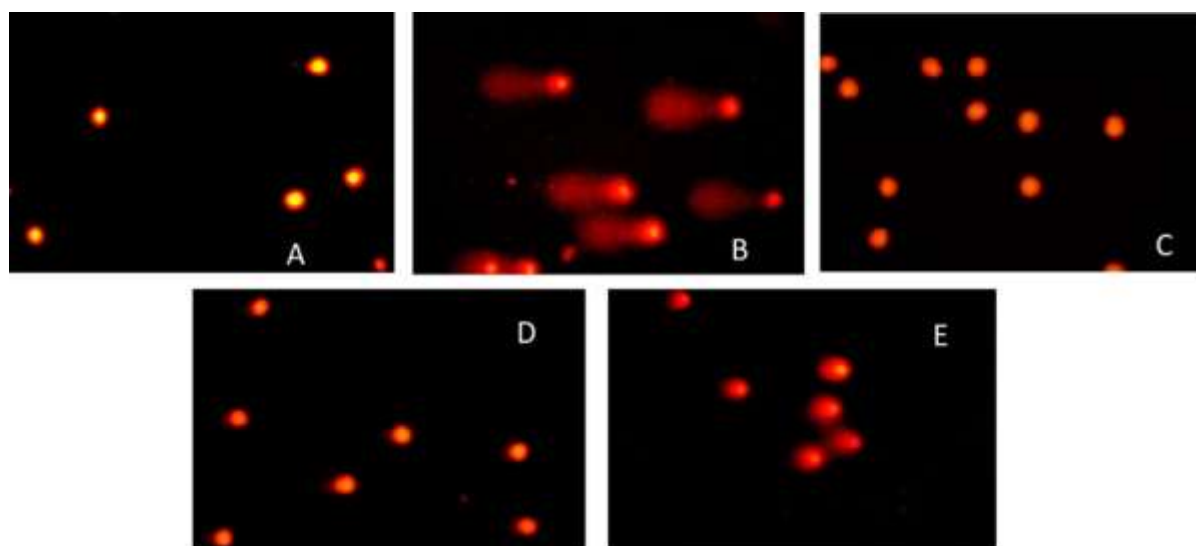
**Table 1:** Percentage of DNA tail in peripheral blood erythrocytes of *O. mykiss* (mean  $\pm$  SE)

Time	Control	CYP 4 mg/ L	AMX 80 mg/kg	AMX 160 mg/kg	AMX 320 mg/kg	Significance
3. day	18.35 $\pm$ 2.09 <sup>c,x</sup>	65.40 $\pm$ 3.45 <sup>a,y</sup>	20.54 $\pm$ 3.89 <sup>c,x</sup>	23.05 $\pm$ 5.11 <sup>c,x</sup>	37.80 $\pm$ 1.67 <sup>b,y</sup>	***
6. day	17.87 $\pm$ 3.38 <sup>c,x</sup>	68.70 $\pm$ 2.93 <sup>a,xy</sup>	23.92 $\pm$ 2.73 <sup>c,x</sup>	22.06 $\pm$ 2.21 <sup>c,x</sup>	47.78 $\pm$ 2.93 <sup>b,x</sup>	***
10. day	18.23 $\pm$ 3.92 <sup>c,x</sup>	71.30 $\pm$ 2.61 <sup>a,x</sup>	19.97 $\pm$ 3.62 <sup>c,x</sup>	21.67 $\pm$ 3.35 <sup>c,x</sup>	35.31 $\pm$ 3.06 <sup>b,y</sup>	***
Significance	NS	*	NS	NS	**	

<sup>a,b,c</sup> : Differences between the mean values carrying different letters in the same line are significant.

<sup>x</sup> : Differences between the mean values carrying different letters in the same column are significant.

CYP : Cyclophosphamide, AMX: Amoxicillin NS: Not significant ( $p > 0.05$ ); \*\*\*  $p < 0.001$ ; \*\*  $p < 0.01$



**Figure 1.** Comet images in peripheral blood erythrocytes of *Oncorhynchus mykiss*. A: Control group, B: Positive control, C: Cells treated with 80 mg/kg bw of amoxicillin, D: Cells treated with 160 mg/kg bw of amoxicillin, E: Cells treated with 320 mg/kg bw of amoxicillin.

As shown in Table 2, treatment with the highest dose of amoxicillin (320 mg/kg bw) caused a significant increase in the micronucleus frequency with respect to the negative control and other treatment groups at all the exposure times. The damage started to increase from day 3 to day 6 and decrease from day 6 to day 10, but the differences were not found significant ( $p>0.05$ ). The highest frequency of micronucleus was observed on the 6<sup>th</sup> day in the 320 mg/kg group. In the other treatment groups (80 and 160 mg/kg bw), no significant difference was found with respect to the negative control group.

**Table 2:** Micronucleus frequencies in peripheral blood erythrocytes of *Oncorhynchus mykiss* (mean  $\pm$  SE)

Time	Control	CYP 4 mg/L	AMX 80 mg/kg	AMX 160 mg/kg	AMX 320 mg/kg	Significance
3. day	5.07 $\pm$ 0.77 c, x	27.73 $\pm$ 1.01 <sup>a</sup> x	4.77 $\pm$ 1.0 <sup>c, x</sup>	5.97 $\pm$ 0.83 <sup>c</sup> x	15.80 $\pm$ 0.49 <sup>b</sup> x	***
6. day	4.46 $\pm$ 0.80 c, x	28.26 $\pm$ 1.24 <sup>a</sup> x	5.83 $\pm$ 1.12 <sup>c</sup> x	6.97 $\pm$ 1.13 <sup>c</sup> x	16.33 $\pm$ 0.53 <sup>b</sup> x	***
10. day	4.63 $\pm$ 0.73 c, x	25.90 $\pm$ 1.13 <sup>a</sup> x	5.33 $\pm$ 0.96 <sup>c</sup> x	6.33 $\pm$ 0.65 <sup>c</sup> x	15.90 $\pm$ 0.48 <sup>b</sup> x	***
Significance	NS	NS	NS	NS	NS	

<sup>a,b,c</sup> : Differences between the mean values carrying different letters in the same line are significant.

<sup>x</sup> : Differences between the mean values carrying different letters in the same column are significant.

CYP : Cyclophosphamide, AMX: Amoxicillin, MN: Micronucleus

NS: Not significant ( $p>0.05$ ); \*\*\*  $p< 0.001$

Among the different pharmaceuticals in aquatic environment, antibiotics are considered an important risk group for the aquatic ecosystem, since their increasing use in human and veterinary medicine. In this direction, the evaluation of the effects of these compounds that are also frequently used in aquatic ecosystems on aquatic organisms has been a very important research topic in recent years. Although there are some studies demonstrating the toxic effects of amoxicillin on fish (El-Nahhal et al., 2015), scientific reports on the genotoxicity potential of amoxicillin on aquatic organisms are extremely limited. In the study conducted by Vitturi et al. (1995), it has been reported that amoxicillin derivatives have genotoxic and cytotoxic potentials on *Rutilus rutilus* (pisces, cyprinidae) chromosomes. On the other hand, controversial results have been reported regarding the genotoxicity potential of amoxicillin on mammalian species. According to the study conducted by Arabski et al. (2005), amoxicillin induced DNA strand breaks and base modifications in healthy and *Helicobacter pylori*-infected gastric mucosa cells as well as in peripheral blood lymphocytes, via free oxygen radical production. It is well known that free oxygen radicals are quite reactive molecules that can cause oxidative base modifications and DNA strand breaks via interaction with DNA (Cooke et al., 2003). Considering previous reports, it can be concluded that amoxicillin indirectly induces DNA damage by increasing the production of free radicals caused oxidative stress in mammalian species (Li et al., 2007). Amoxicillin also leads to oxidative stress in fish species as mammals via inhibiting intracellular antioxidant enzyme catalase, which protects cells against oxidative stress and induces glutathione-S-transferases at high concentrations (Oliveira et al., 2013). In the present study, the increase of micronucleus frequency and % tail DNA in cells at the high concentration may probably be due to the high production of reactive oxygen species. Previous studies reported that amoxicillin-induced DNA damage is completely repaired in a short time by repair mechanisms in mammalian cells (Arabski et al., 2005). Our results indicated that although the micronucleus frequency and the percentage of tail DNA in cells started to decrease from the 6<sup>th</sup> day to the 10<sup>th</sup> day, the damage was not completely repaired. This can be explained by the fact that fish cells have a lower DNA repair activity compared to mammalian cells.

#### 4. CONCLUSION

The results of the present study revealed that amoxicillin may be a safe treatment option for rainbow trout in the recommended therapeutic range, however, may have genotoxic potential at higher

concentrations. This study also confirmed that the micronucleus test and comet assay are useful methods for the detection of genotoxic substances in the aquatic environment. More comprehensive studies are needed to elucidate the mechanism of the genotoxic effect of amoxicillin on fish and to evaluate the DNA repair capacity in fish species.

## 5. REFERENCES

- Al- Sabti, K. and Metcalfe, C.D. (1995) Fish micronuclei for assessing genotoxicity in water. *Mutat Res* 343, 121-135.
- Arabski, M., Kazmierczak, P., Wisniewska- Jarosinska, M., Poplawski, T., Klupinska, G., Chojnacki, J., Drzewoski, J. and Blasiak, J. (2015) Interaction of amoxicillin with DNA in human lymphocytes and H. Pylori- infected gastric mucosa cells. *Chemico- Biol Inter* 152, 13-24.
- Armstrong, S.M., Hargrave, B.T. and Haya, K. (2005) Antibiotic use in finfish aquaculture: Modes of action, environmental fate and microbial resistance. *Hdb Env Chem* 5, 341- 357.
- Cavas, T. and Ergene- Gozukara, S. (2005) Genotoxicity evaluation of metronidazole using the piscine micronucleus test by acridine orange fluorescent staining. *Environ Toxicol Pharmacol* 19, 107-111.
- Cavas, T. and Konen, S. (2008) *In vivo* genotoxicity testing of the amnesic shellfish poison (domoic acid) in piscine erythrocytes using the micronucleus test and the comet assay. *Aqua Toxicol* 90, 154-159.
- Cooke, M.S., Evansi, M.D., Dizdaroglu, M. And Lunec, J. (2003) Oxidative DNA damage : mechanisms, mutation and disease. *Faseb J* 17, 1195-1214.
- El- Nahhal, Y. and El- Dahdouh, N.E. (2015) Toxicity of amoxicillin and erythromycin to fish and mosquito. *Ecotoxicol Environ Contam* 10, 13-21.
- Jerbi, M.A., Ouanes, Z., Besbes, R., Achour, L. and Kacem, A. (2011) Single and combined genotoxic and cytotoxic effects of two xenobiotics widely used in intensive aquaculture. *Mutat Res* 724, 22-27.
- Langin, A., Alexy, R., König, A. and Kümmerer, K. (2009) Deactivation and transformation products in biodegradability testing of beta-lactams amoxicillin and piperacillin. *Chemosphere* 75, 347-354.
- Li, P.Y., Chang, Y.C., Tzang, B.S., Chen, C.C. and Liu, Y.C. (2007) Antibiotic amoxicillin induces DNA lesions in mammalian cells possibly via the reactive oxygen species. *Mutat Res* 629, 133-139.
- Oliveira, R., McDonough, S., Ladewig, J.C., Soares, A.M., Nogueira, A.J. and Domingues, I. (2013) Effects of oxytetracycline and amoxicillin on development and biomarkers activities of zebrafish (*Danio rerio*). *Environ Toxicol Pharmacol* 36, 903-912.
- Ozturk, T., Didinen, B.I., Dogan, G., Ozer, A. and Bircan R. (2013) Lactococcosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) in the middle Black Sea Region in Turkey and antimicrobial susceptibility of the aetiological agent, *Lactococcus garvieae*. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg* 24, 7-12.
- Rocco, L., Peluso, C. and Stingo, V. (2012) Micronucleus test and comet assay for the evaluation of zebrafish genomic damage induced by erythromycin and lincomycin. *Environ Toxicol* 27, 598-604.
- Vitturi, R., Zava, B., Colomba, S.M., Pellerito, A., Maggio, F. and Pellerito, L. (1995) Organometallic complexes with biological molecules: V. *In vivo* cytotoxicity of diorganotin (IV)- amoxicillin derivatives in mitotic chromosomes of *rutilus rubilio* (pisces, cyprinidae). *App Organomet Chem* 9, 561-566.

**BİTKİ BAZLI SÜTLERİN YÜKSELEN TRENDİ VE HAYVANSAL SÜTLE  
KARŞILAŞTIRILMASI**  
**THE RISING TREND OF PLANT-BASED MILK AND BY COMPARISON WITH ANIMAL  
SOURCES OF MILK**

*Hülya YAMAN*

*Dr. Öğr. Üyesi, Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Bolu Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Bolu, Türkiye.*

*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0450-8058>*

**ÖZET**

Tüketicilerin sürdürülebilirlik, sağlık ve etik değerlere odaklanması ile diyetlerinde hayvansal gıda ürünlerini azaltmaya yönelik eğilimleri artmaya başlamıştır. Bunun sonucunda gıda endüstrisi, hayvansal sütün birçok fizikokimyasal ve duyuşsal özelliğini taklit eden yenilikçi bitki bazlı içecekler üretmeye başlamıştır. Koronavirüs pandemisi döneminde tüketicilerin farklı ve yeni ürünlerin arayışında olması bitki bazlı süt ve süt ürünlerinin pazarını arttırmıştır. Bu ürünlerin pazar payları ise popülerliklerine bağlı olarak değişim göstermektedir.

Sütün sayısız faydası olmasına rağmen, bebeklerde alerji, laktoz intoleransı, hayvan refahı, hayvanlarda antibiyotik ve hormon kullanımı, veganizm ve çevreye zarar verdiği algısından dolayı tüketicilerin hayvansal süt tüketimini azaltma ve alternatif bitki bazlı ürünlere eğilimi artış göstermiştir.

Ayrıca bitki bazlı sütü savunanlar, bu ürünlerin çevreye daha az olumsuz etkisinin olması, üretimlerinde daha düşük su kullanımı, küresel ısınmaya etkisinin az olması ve hayvan sütüne göre besin değerinin daha yüksek olması gibi birçok avantajı olduğunu öne sürmektedirler. Ancak bitki bazlı sütün düşük protein ve değişken besin içerikleri, daha yüksek fiyatlı olmaları, üretimlerinde dolgu maddesi ve ilave şeker kullanımı konusundaki endişeler, bitkisel bazlı ürünlerin tercihi konusunda kafa karışıklığına neden olmaktadır.

Besinsel değeri açısından değerlendirildiğinde, diyetle bitki bazlı sütün hayvansal süt ile yer değişimi sonucunda bitkisel sütün protein oranlarının düşüklüğünden dolayı sağlık problemlerine yol açabilecektir. Buna ilaveten bitkisel sütün beslenen bireylerin esansiyel amino asitleri içeren diğer protein kaynaklarıyla diyetlerini desteklediklerinde bu sorun ortaya çıkmayacaktır.

Bu çalışmada bitki bazlı sütünle hayvansal sütün içeriklerinin, avantaj ve dezavantajlarının karşılaştırılmalarının yanında sindirimleri ve sağlık etkileri de tartışılacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** hayvansal süt, bitkisel süt, besin değeri, sağlıklı beslenme

**ABSTRACT**

With the consumers' focus on sustainability, health, and ethical values, their tendency to reduce animal food products in their diets has started to increase. As a result, the food industry has begun to produce innovative plant-based beverages that mimic many of the physicochemical and sensory properties of animal sources milk. During the coronavirus pandemic, consumers' search for different and new products has increased the market for plant-based milk and dairy products. The market shares of these products vary depending on their popularity.

Despite the numerous benefits of milk, the tendency of consumers to reduce their consumption of animal milk and to alternative plant-based products has increased due to allergies in infants, lactose intolerance, animal welfare, use of antibiotics and hormones in animals, veganism, and the perception that it harms the environment.

In addition, advocates of plant-based milk argue that these products have many advantages, such as less negative impact on the environment, lower water use in their production, less impact on global warming, and higher nutritional value than animal milk. However, plant-based milk's low protein and variable nutritional content, higher prices, and concerns about the use of fillers and added sugars in their products confuse the preference for plant-based products.

When evaluated in terms of nutritional value, the substitution of plant-based milk with animal milk in the diet may cause health problems due to the low protein ratios of vegetable milk. In addition, this protein problem will not occur in diets supplemented with other protein sources containing essential amino acids.

In this study, besides the comparison of the contents, advantages, and disadvantages of plant-based and animal milk, their digestion and health effects will also be discussed.

**Keywords:** animal milk, plant-based milk, nutrition value, healthy diet

## 1. GİRİŞ

Son yıllarda yeni gıda ürünlerinin geliştirilmesindeki ana hedef değişen ihtiyaçları göz önünde tutarak daha sağlıklı ve fonksiyonel özelliklere sahip gıda alternatifleri yaratarak tüketicinin taleplerini karşılamaktır. Teknolojik gelişmeler ile kentleşmeler yeni ürün taleplerini hızlandırmıştır. Günümüzde içecekler sadece susuluk giderici olarak görülmemekte ve artık yaşamın bir parçası olan içeceklerde enerjiyi artırmak, yaşlanmayı yavaşlatmak, zayıflatmak, yorgunluk ve stresle mücadele etmek ve belirli hastalıkları hedeflemek gibi fonksiyonel özellik yani sağlığa olumlu etkiler aramaktadır. Son yıllarda yaşanan bu değişim ve gelişmeler içecek sektöründe daha yeni ürünlerin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bu tür önemli işlevsel gereksinimlerden biri, inek sütü alerjisi, laktoz intoleransı, kalori endişesi ve hiperkolik terolemi prevalansı sorunlarına cevap verecek süt alternatifleridir (Valencia-Flores vd., 2013).

Süt denilince dişi memeli hayvanların yavrularını besleyebilmek üzere, süt bezlerinde salgılanan, yavrusunu besleyebilecek bütün besin maddelerini yeterli miktarda bulunduran bir sıvı olarak tanımlanmaktadır. Bitki bazlı süt ise, rengi hayvansal süte benzeyen ve bitkilerden üretilen içecek olarak tanımlanmakla beraber, hayvansal kaynaklı olmayan, bitkilerden üretilmiş, su bazlı bitki özleri ile tatlandırılmış kokulu içecekler olarak da ifade edilmektedir. Bitki bazlı sütler 10. yy dan itibaren Kuzey Afrikada fındıktan yapılan bir içecek olan horchata olarak, Amerikanın kuzeydoğusundaki kabilelerde yine fındıktan yapılan bitki bazlı sütler olarak kaynaklarda görülebilmektedir. Daha sonra ise Çin'de soya sütü görülmeye başlanmıştır. Bitki bazlı sütlerin kullanım sıklığı etnik kökene bağlı olarak değişmektedir. Örneğin beyaz Kuzey Avrupalılar, Kuzey Amerikalılar ve Avustralyalılar İngiliz popülasyonu olarak %5 ile en düşük intoleransa sahipken Finlandiya ve Kuzey Fransa'da bu değer %17'dir. Güney Amerika, Afrika ve Asya'da nüfusun %50'den fazlasında laktoz direnci yoktur ve bazı Asya ülkelerinde bu oran %100'e yakındır (Lomer vd., 2008). Sonuç olarak, laktoz içermemesi nedeniyle bitki bazlı süt tüketiminin her geçen gün arttığı görülebilmektedir. Son yıllarda bitkiler (tahıllar ve baklagiller), diyet lifleri, mineraller, vitaminler ve antioksidanlar gibi sağlığı geliştirici bileşenlerin varlığı nedeniyle fonksiyonel gıda ve nutrasötikler olarak kabul edilmektedir (Das vd., 2012). Bu bağlamda, az sayıda baklagil ve yağlı tohum, süt ürünü olmayan, sağlıklı, uygun fiyatlı ve besleyici bitki bazlı süt alternatiflerinin hazırlanmasında yaygın olarak kullanılmaya başlamıştır (Sosulski vd., 1978). Daha sonra gıdanın duyuşal ve fonksiyonel özellikleri geliştirilmelerinde tahıllarla beraber, yağlı tohumların ve sert kabuklu yemişlerin kullanımının araştırılmasına yönelmiştir (Toma ve Tabekhia 1979). Bunlara ilaveten tüketicilerin organik ve vegan ürünler kullanma trendi bu ürünlerin polpülerliğini artırmaktadır. Stratejik Pazar Araştırmaları, küresel bitki bazlı süt pazarının 2021'de 35 milyar dolar değerinde %15'lik güçlü bir Yıllık Ortalama Büyüme Oranı (CAGR)'na tanık olacağını ve 2030'a kadar değer kazanarak 123,1 milyar dolara ulaşacağını ortaya koymaktadır. Kuzey Amerika, 2021'de %40'ın üzerinde oldukça büyük bir pazar payına sahip olmuştur (Future Market Insights, 2021).

Koronavirüs salgını diğer alanlarda olduğu gibi gıda ve sağlık alanında yarattığı kriz ile insanların beslenme biçimlerini yeniden değerlendirmelerine neden olmuş ve bitki bazlı süt endüstrisinde beklenmedik artışlara neden olmuştur. COVID-19'un patlak vermesi ile hayvansal ürünlerin üretiminde



personel ihtiyacının olması ve tarımsal ürünlerin emeğe daha az bağımlı olması bitki bazlı süt talebinde artışlar sağlamıştır. Ayrıca tıbbi araştırmalar, COVID-19'un evde hareketsiz kalmaktan diyabet, hipertansiyon ve kalp hastalığı gibi insanların sağlığını olumsuz etkilediğinden bitki bazlı sütlerin bu sorunları azaltacağı yönünde eğilimi de ortaya çıkarmıştır (Bombe, 2022).

## **2.BİTKİ BAZLI SÜT ALTERNATİF PAZAR PAYININ BÜYÜMESİNİ DESTEKLEYEN ETKENLER**

*Bitki temelli süt alternatiflerin üretimlerinde çevreye olan zararın daha az olması;*

Hayvansal ürünlerin üretimlerinde orataya çıkan sera gazlarının bitkisel ürünlere kıyasla daha fazla olması, çevreye duyarlı tüketicilerin tercihini bitki bazlı ürünlere yöneltmiştir. Veganizm ile çevre duyarlılığının birleşmesi ile tüketiciler bitki bazlı et ve süt alternatiflerine yönelmeye başlamışlardır. Aynı zamanda bitki temelli gıda ürünlerinin üretimlerinde hayvansal ürünlere kıyasla daha az su tüketilmesi yine diğer bir etken olarak karşımıza çıkmaktadır. Bitkisel sütler içinde en fazla su kullanımı gerektiren badem sütünün bir litresini üretmek için 371 litre suya ihtiyaç varken, hayvan sütünde bu miktar 628 litreyi bulmaktadır. Pirinç sütü için 270 litre, soya için 28, yulaf sütü için ise 48 litre su gerekmektedir (Poore ve Nemecek, 2018).

*Toplumlarda artan laktoz intolerans düzeyi;*

Toplumlarda laktoz intolerans düzeylerindeki artış tüketicileri bitki temelli süt ürünlerine yöneltmiştir. Hükümetler ve sağlık kuruluşları laktozu parçalanmış süt tüketimi veya bitki temelli süt ürünlerinin tüketimi konusunda tavsiyelerde bulunmaktadır. Ancak bitki bazlı süt alternatiflerinin besin değerlerinin düşüklüğünden kaynaklı zorluklar bu ürünlerin popüler olmasına rağmen tüketimlerini etkilemektedir. Diğer bir zorluk ise üreticilerin birkisel süt alternatiflerinin besin değeri konusunda tüketicileri yanlış yönlendirebilecek etiketler kullanabilmesidir (Bombe, 2023).

*Bitkisel kaynaklı besin kaynaklarına talebin artması;*

Y kuşağı ve Z kuşağı son dönemlerde doğala dönüş trendi ile geleneksel temel gıda ürünlerinde sürdürülebilir ve sağlıklı bitki bazlı alternatifleri keşfetmişlerdir. Bitki bazlı protein kaynaklarına olan talebin önemli ölçüde artması, bitki bazlı sütlerin önemli ölçüde tercih edilmesine neden olmuştur. Ayrıca veganizme olan ilgi, özellikle Y kuşağı arasında daha hızlı yayılmakta ve geniş bir tüketici tabanı oluşturmaktadır (Business Wire, 2016)

*Besinsel içerik;*

Bitkisel süt alternatiflerinin içerik olarak hayvansal sütlerle kıyaslandığında genel olarak daha düşük yağ ve protein değerine sahip olduğu bilinmektedir. Ancak tüketicide bitkisel süt alternatiflerinin hayvansal sütle aynı ve hatta soya sütünde daha yüksek protein oranı varmış algısı yaratılarak satış potansiyelleri artırılmaya çalışılmaktadır. Tüketicilerin bu konuda farkındalıkları artırılıp bitkisel sütleri kullandıkları takdirde ek besin öğelerini almaları gerektiği hatırlatılmalıdır. Ayrıca üretimlerinde katkı maddeleri ve ilave şeker kullanılmasına karşın ürünlerin doğal/organik olmaları üzerine algı yaratılmaktadır (Sethi vd., 2016; Business Wire, 2016).

*Çevrimiçi perakende kanalları yoluyla dağıtımın güçlendirilmesi;*

Gıda ve içecek ürünlerinin satışının artmasında e-Ticaret sisteminin de önemli bir rolü bulunmaktadır. E-Ticaret ile alışveriş siteleri, marketlerin kendi online satışları veya çeşitli çevrimiçi platformlar üzerinden yapılan satışlar ile pazar alanı her geçen gün genişletilmektedir (Future Market Insights, 2021).

*Aromalı ürünlerin gelecekte daha büyük pazara sahip olacağı beklentisi;*

Gıda formülasyonundaki değişiklikler özellikle formülasyonda aroma maddelerinin kullanımlarındaki artış, aromalı ürün pazarının büyümesinde etkili olacağı varsayılmaktadır. Süt alternatiflerindeki tat ve doku eksiklikleri ile ilgili problemlerin çözülmesinde doğal ve süt içermeyen süt aromalarının rolünün farkına varılması, tat ve lezzetin geliştirilmesi ve ürünlerin kısa sürede ticarileştirilmesi açısından önemlidir (Future Market Insights, 2021; Business Wire, 2016).

*Bitki bazlı süt ürünleri alternatiflerine artan ilgi, bitki bazlı süt ürünleri alternatiflerinin sunduğu besinsel faydalar ve veganlık;*

Bitki bazlı süt alternatiflerinin kolestrerol seviyelerinin düşük olması, kardiyovasküler sağlık ve diyabet kontrolü gibi beslenme faydaları tüketimlerinde artışa neden olmuştur. Örneğin soya sütü zengin omega-3 yağ asitleri, protein ve lif kaynağı olarak tüketilmekte, aynı zamanda anti-östrojenik ve antikanserijenik terapötik özelliklere sahip izoflavonlar içerdiğinden daha çok tercih edilmektedir. Şeker ilave edilmemiş ürünlerde daha az kalori içermekte ve bazı ürünler ise vitaminlerle desteklenmiştir. Bu tür besinsel faydalar süt alternatifleri pazarının büyümesine katkıda bulunur. Ancak soya sütüne veya diğer bitkisel ürünlere alerjik reaksiyon gösteren bünyeler için endişe yaratmaktadır. Bilindiği üzere soya, ilk sekiz ana gıda alerjisi arasında yer almaktadır. Bu tür alerjen içeren bitkisel süt alternatiflerinin pazarında kısıtlamalar beklenmektedir (Future Market Insights, 2021).

*Tüketicilerin yaşam tarzındaki değişiklikler ile şirketlere sunduğu fırsatlar;*

Küresel nüfusun artışı gıda kaynaklarında sıkıntıya neden olmakta ve sonuçta kıt kaynaklar üzerinde baskı oluşturmaktadır. Diğer yandan enerji fiyatlarının ve hammadde maliyetlerinin artması ürünün fiyatını artırdığından düşük gelirli tüketicileri olumsuz etkilemektedir. Değişen yaşam şartlarına ayak uydururken insanlar daha çok fast-food gıda ürünlerini tercih etmektedirler. Ancak farkındalık, doğal ve geleneksel ürünlere dönüş trendi ile daha sağlıklı ve yüksek besin değerine sahip gıdalara yönelmesi beklenmektedir. Özellikle laktoz intoleransı yüksek olan Asya Pasifik ülkelerinde bu oranın daha da artacağı ve gelişmekte olan ekonomiler için iyi bir fırsat doğuracağı düşünülmektedir (Future Market Insights, 2021).

*Tüketicilerin farkındalıklarının düşük olması;*

Süt alternatifleri pazarının büyümesinde ortaya çıkan diğer bir sıkıntı süt alternatiflerinin besinsel faydaları hakkında farkındalıkların az olmasıdır. Bazı tüketiciler süt alternatiflerinin besin değerinin inek sütünden çok düşük olduğunu ve temel besin öğelerini alamayacağını düşünmektedir. İnek sütü ile kıyaslandığında protein profili açısından bitki temelli süt alternatiflerinin besin değerinin daha düşük olduğu ancak zenginleştirici formülasyonlarla besin değerinin artırılmaya çalışıldığı görülmektedir (Bombe, 2023)

## **HAYVANSAL SÜT İLE İLGİLİ ENDİŞELER**

*Bebeklerde alerjik reaksiyonlara neden olması;*

Bebekler üzerine yapılan araştırmalarda bebeklerin %2-3'ünün süt alerjisi ile doğduğu tahmin edilmektedir ancak çoğu altı yaşına kadar bu alerjiyi aşabilmektedir. Bu nedenle süt proteinlerine alerji yaşanma durumunun devam etmesi veya anne sütü alamayan çocuklara alternatif olarak görülmesi bitki bazlı süt alternatifleri pazarının artmasına sebep olmaktadır. Diğer yandan soya sütü bilindiği üzere, ilk sekiz ana gıda alerjisi arasında yer almaktadır. Bu tür alerjen içeren bitkisel süt alternatiflerinin pazarında kısıtlamalar beklenmektedir (Lifschitz ve Szajewska, 2015; Host vd., 2002).

*Laktoz İntoleransı ile sağlığın olumsuz etkilenmesi*

Laktoz intoleransı etnik kökene bağlı olarak değişir. İngiliz kökenli insan popülasyonları özellikle Kuzey Avrupalılar, Kuzey Amerikalılar ve Avusturalyalılar %5 ile en düşük laktoz intoleransına sahiptirler. Diğer Avrupa ülkelerinden Finlandiya ve Kuzey Fransa'da bu değer %17'ye yükselmektedir. Güney Amerika, Afrika ve Asya'da nüfusun %50'den fazlasında ve bazı Asya ülkelerinde %100'e yakın oranda laktoz intolerans mevcuttur (Lomer vd., 2008). Bu kişilerde süt tüketmek bağırsak rahatsızlığına neden olabilmektedir. Pazarda laktozsuz süt mevcuttur, ancak bazı kişiler diğer alternatifleri tercih etmektedir. Sonuç olarak, laktoz içermemesi nedeniyle bitki bazlı süt tüketiminde her geçen gün artış gözlenmektedir (Business Wire, 2016)

*Üretimin iklim değişikliği ve çevreye yaptığı olumsuz etkilerden dolayı çevresel kaygılar*

Tarımın çevreye üç temel olumsuz etkisi bulunmaktadır. Bunlar arasında birincisi büyük miktarlarda tatlı su tüketimi çevresel baskılara neden olabilmektedir. Su sadece tüketim olarak değerlendirilmemeli aynı zamanda atık olarak nehir, göl ve oyanusları da kirlettiği göz önünde bulundurulmalıdır. İkinci olarak sera gazı emisyonlarının yaklaşık dörtte birinden sorumludur ve iklim değişikliğinde önemli bir

itici güç olarak karşımıza çıkmaktadır. Son olarak dünyadaki arazilerin yarısının tarım alanı olarak kullanılması diğer biyolojik canlılar için biyoçeşitliliğin azalmasına neden olmaktadır. Bu kaygıları temel aldığımızda süt sığırları, bitkilerden daha fazla sera gazı emisyonu üretir ve daha fazla arazi ve kaynak gerektirir. Araştırmalar süt alternatifleri üretmenin daha sürdürülebilir ve çevre dostu bir uygulama olduğunu göstermektedir (Poore ve Nemecek, 2018)

#### *Sütte antibiyotik ve böcek ilaçlarına rastlanması*

Süt hayvanlarını yetiştirilmesi ve bakımları yapılırken verilen antibiyotiklerin süte geçmesi tüketiciler için diğer bir kaygıyı oluşturmaktadır. Diğer yandan yemlerden ve ortamdan pestisitlerin süte bulaşması ise yine tüketicilerde olumsuz önyargı oluşturmaktadır. Amerikada piyasada satılan sütlerde antibiyotik ve pestisit varlığı geleneksel üretimde mevcutken organik üretimlerde bu maddelerin bulunmadığı bilinmektedir. Ancak organik ürünleri satın alınması için tüm tüketicilerde yeterli bütçe bulunmayabilir (Welch vd., 2019).

#### *Sütün prostat sağlığı, kemik sağlığı ve sütteki hormonların ergenlik üzerine etkileri*

Prostat sağlığı: Araştırmalar, çok fazla süt ve süt ürünleri tüketen erkeklerin prostat kanseri geliştirme riskinin daha yüksek olduğunu göstermiştir. Bu nedenle araştırmacılar erkeklerin diyetinde süt ürünleri alımının azaltılması veya en aza indirilmesini tavsiye etmektedirler (Aune vd., 2015; Gao vd., 2005)

Kemik sağlığı üzerine karma araştırmalar: Sütün kemik sağlığını desteklediğine dair çok sayıda kanıt olsa da, sütteki kalsiyumun osteoporoz ve kırıklara karşı koruma sağlayamayacağını öne süren bazı yeni araştırmalar bulunmaktadır (Lanou vd., 2005; Bischoff-Ferrari vd., 2007; Bian vd., 2018)

Sütün östrojen ve progesteron hormonu içermektedir. Tüketicilerin sütteki bu hormonların kız çocuklarında kansere ve/veya erken ergenliğe yol açabileceğinden kaygılanmaktadırlar. Bu kaygıları destekleyen çok az çalışma bulunmaktadır (Wiley, 2011; Gaskins vd., 2017)

#### **4.BİTKİ KAYNAKLI SÜT ALTERNATİFLERİ İLE İLGİLİ ENDİŞELER**

##### *Besinsel değerlerdeki eksiklikler:*

Bitki temelli süt alternatiflerinin besinsel değerleri bitkisel kaynağına bağlı olarak farklılıklar göstermektedir. Temel bileşimleri Tabloda görüleceği üzere protein miktarı açısından soya fasulyesi en yüksek değere sahip olmakla birlikte hayvansal süt içeriğine ulaşamamıştır. Diğer bir değişle bitki temelli süt alternatifleri duyuşal özellikleri açısından her ne kadar hayvansal sültere benzese de içerik açısından ve besin kalitesi açısından hayvansal sültere kıyasla daha düşüktür. Bitki bazlı süt alternatiflerinin kullanımları durumunda diyetin elzem amino asit ve yağ asidi içeren besin öğeleri ile desteklenmesi gerekmektedir (Vanga ve Raghavan, 2017). Özellikle çocukların beslenmesinde bitki bazlı süt alternatiflerinin besin değerlerinin akılda tutmak çok önemlidir.

**Tablo 1.** Seçilmiş bitki bazlı süt alternatiflerinin besin değerlerinin karşılaştırılması (Sethi ve ark, 2016)

Süt türü (240 ml porsiyon başına)	Kalori (kcal)	Protein (g)	Yağ (g)	Karbohidrat (g)	Diet lifi (g)	Kalsiyum (% günlük değer)	Demir (% günlük değer)	Vitamin A (% günlük değer)
Soya sütü	80	7	4	4	1	30	–	10
Kinoa sütü	104	4.5	6	9	–	–	–	–
Pirinç sütü	130	1	2	27	0	30	6	10
Yulaf sütü	80	2.5	4	16	2	15	0	10
Susam sütü	140	1.5	6	16.5	0.5	–	–	–
Badem sütü	40	1	3	2	1	20	2	10
Hindistan Cevizi sütü	80	<1	5	7	0	45	4	10
Kenevir sütü	70	2	6	1	0	30	6	10
Fındık sütü	124	1.4	6	14	–	–	–	–
Tahıl Karışımı sütü (7 tahıl)	140	3	2	27	1	35	8	15
İnek sütü	168	8	10	11	–	338 mg	1.25µg	168 µg

*Bitki bazlı sütlerin fiyatlarını daha yüksek olması:*

İnternette hızlı bir arama yapıldığında veya marketlere bakıldığında bitki bazlı süt alternatiflerinin hayvansal sütlerle kıyasla daha yüksek olduğu görülmektedir. Bitkisel süt alternatiflerinin fiyatları genelde hammaddenin fiyatına göre değişmektedir. Tahıl ürünlerinden üretilen ürünlerin daha düşük fiyatlı iken kurubaklagil (örn soya) ve kuruyemişlerden (badem, fındık) üretilen ürünlerin daha yüksek fiyatlı olduğu görülebilmektedir. Bu ürünlerin pazardaki payı daha çok Z kuşağının trend ve popüler gıda ürünlerini tüketme eğilimine bağlı olarak artış göstermeye devam etmektedir (Business Wire, 2016).

*Dolgu maddelerinin kullanımı:*

Bitki temelli süt ürünlerinin üretiminde tüketicilerin tercih ettikleri edilen duyuşsal özelliklerin kazandırılması için proses esnasında birçok katkı maddesi kullanılmaktadır. Bu katkı maddelerin bir kısmı ürünün besinsel kalitesinin artırılmasına yönelik diyet lifi ve vitaminler (Riboflavin, Siyanokobalamin, Ergokalsiferol) gibi tercih edilen zenginleştirici katkı maddeleridir. Ancak kaygı yaratan kısım ise asitlik düzenleyici, aroma verici, stabilizörler, tatlandırıcı ve boya maddeleri yer alabilmektedir. Katkı maddelerin yer alması ürünün doğallık özelliklerini olumsuz algı yaratmaktadır (McClements vd., 2019).

*Eklenen Şekerler:*

Bitki temelli süt ürünlerinden duyuşsal özellik olarak beklentilerden biri de lezzettir. Üreticiler istenilen tat ve aromayı sağlayabilme amacıyla ürünlere şeker ilave edilmektedir. Günümüzde daha çok früktoz şurubu şeklinde ilave edilen şekerler tüketicilerde olumsuz etki bırakmaktadır. Ancak son zamanlarda şekersiz üretilen bitki bazlı süt alternatifleri de pazara sunulmuştur (McClements vd., 2019).

**5.SONUÇ**

Bitki bazlı süt alternatiflerine müşteri talepleri artmasıyla beraber birçok gıda üreticisi bitkisel süt pazarına girmekte ya da girmeyi arzulamaktadır. Ancak bitkisel süt ürünlerin üretiminde duyuşsal özellikler, tat, aroma ve doku açısından hammaddeye özgü uygun işleme yönteminin ve formülasyonun geliştirilmesi tüketici beğenisi için olmazsa olmaz bir gerekliliktir. Uygun şekilde üretilmeyen ürünler kısa raf ömrü, müşteri tarafından beğenilmeme ve gıda güvenliği riskleri gibi çeşitli olumsuzluklara neden olmaktadır. Aynı zamanda besinsel içeriğinin diyet lifi, vitamin, esansiyel amino asit ve esansiyel yağlar açısından zenginleştirilmesi gerekmektedir.

Ticari açıdan değerlendirildiğinde tüketicilerin doğala dönüş trendi, bitkisel ve geleneksel ürünlere ilginin artması, bitki bazlı süt alternatiflerinin Z kuşağı tarafından popüler olması ve Y kuşağı tarafından doğal bulunması bu ürünlerin pazarını artırmaktadır. Çevreye duyarlı ve veganizmi savunanlar için bitkisel sütler alternatif besin kaynağını oluşturmaktadır.

**KAYNAKLAR**

Lanou, A.J., Berkow, S.E., Barnard, N.D. (2005) Calcium, dairy products, and bone health in children and young adults: a reevaluation of the evidence. *Pediatrics*. 115(3):736-43. doi: 10.1542/peds.2004-0548. PMID: 15741380.

Aune, D., Navarro Rosenblatt, D.A., Chan, D.S., Vieira, A.R., Vieira, R., Greenwood, D.C., Vatten, L.J., Norat, T. (2015). Dairy products, calcium, and prostate cancer risk: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Am J Clin Nutr*.101(1):87-117. doi: 10.3945/ajcn.113.067157

Bian, S., Hu, J., Zhang, K., Wang, Y., Yu, M., Ma, J.(2018). Dairy product consumption and risk of hip fracture: a systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health*. 22;18(1):165. doi: 10.1186/s12889-018-5041-5

Bischoff-Ferrari, H.A., Dawson-Hughes, B., Baron, J.A., Burckhardt, P., Li, R., Spiegelman, D., Specker, B., Orav, J.E., Wong, J.B., Staehelin, H.B., O'Reilly, E., Kiel, D.P., Willett, W.C. (2007) Calcium intake and hip fracture risk in men and women: a meta-analysis of prospective cohort studies and randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr*. 86(6):1780-90. doi: 10.1093/ajcn/86.5.1780

- Bombe, K. (2023) Plant-based Milk Market Worth \$42.86 Billion by 2029 - Exclusive Report by Meticulous Research. (Access: 12.02.2023) <https://www.globenewswire.com/en/news-release/2022/06/24/2468686/0/en/Plant-based-Milk-Market-Worth-42-86-Billion-by-2029-Exclusive-Report-by-Meticulous-Research.html#:~:text=Based%20on%20type%2C%20the%20global,based%20milk%20market%20in%202022>
- Business Wire (2016). [https://www.businesswire.com/news/home/20160504005106/en/Rising-Levels-of-Lactose-Intolerance-Predicted-to-Propel-the-Global-Lactose-Free-Food-Market-Until-2020-Says-Technavio#:~:text=intolerance%20among%20consumers.,In%20the%20US%20and%20Europe%2C%20the%20sales%20of%20lactose%2Dfree,the%20rise%20in%20dairy%20consumption.\(accessed%20in%20Jan,2023\)](https://www.businesswire.com/news/home/20160504005106/en/Rising-Levels-of-Lactose-Intolerance-Predicted-to-Propel-the-Global-Lactose-Free-Food-Market-Until-2020-Says-Technavio#:~:text=intolerance%20among%20consumers.,In%20the%20US%20and%20Europe%2C%20the%20sales%20of%20lactose%2Dfree,the%20rise%20in%20dairy%20consumption.(accessed%20in%20Jan,2023))
- Das, A., Chaudhuri, U.R., Chakraborty, R. (2012) Cereal based functional food of Indian subcontinent: a review. *J Food Sci Technol* 49(6):665–672
- Future Market Insights (2021). <https://www.futuremarketinsights.com/reports/plant-based-milk-market> (accessed in Jan, 2022).
- Gao, X., LaValley, M.P., Tucker, K.L.(2005) Prospective studies of dairy product and calcium intakes and prostate cancer risk: a meta-analysis. *J Natl Cancer Inst.*7;97(23):1768-77. doi: 10.1093/jnci/dji402.
- Gaskins, A.J., Pereira, A., Quintiliano, D., Shepherd, J.A., Uauy, R., Corvalán, C., Michels, K.B. (2017) Dairy intake in relation to breast and pubertal development in Chilean girls. *Am J Clin Nutr.* 105(5):1166-1175. doi: 10.3945/ajcn.116.150359
- Høst, A., Halken, S., Jacobsen, H.P., Christensen, A.E., Herskind, A.M., Plesner, K. (2002) Clinical course of cow's milk protein allergy/intolerance and atopic diseases in childhood. *Pediatr Allergy Immunol.*13(s15):23-8. doi: 10.1034/j.1399-3038.13.s.15.7.x
- Lifschitz, C., Szajewska, H. (2015) Cow's milk allergy: evidence-based diagnosis and management for the practitioner. *Eur J Pediatr.* 174(2):141-50. doi: 10.1007/s00431-014-2422-3
- Lomer, M.C.E., Parkes, G.C., Sanderson, J.D. (2008) Review article: lactose intolerance in clinical practice—myths and realities. *Aliment Pharmacol Ther.* 27(2):93–103
- McClements, D.J., Newman, E., McClements, I.F. (2019). Plant-based Milks: A Review of the Science Underpinning Their Design, Fabrication, and Performance. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 18(6):2047-2067. doi: 10.1111/1541-4337.12505
- Poore, J., Nemecek, T. (2018) Reducing food's environmental impacts through producers and consumers. *Science* 360 (6392): 987-992. <https://doi.org/10.1126/science.aag0216>
- Sethi, S., Tyagi, S.K., Anurag, R.K. (2016) Plant-based milk alternatives an emerging segment of functional beverages: a review. *J Food Sci Technol.* 53(9):3408-3423. doi: 10.1007/s13197-016-2328-3.
- Sosulski, F.W., Chakraborty, P., Humbert, E.S. (1978) Legume-based imitation and blended milk products. *Can Inst Food Sci Technol J.* 11(3):117–123
- Toma, R.B., Tabekhia, M.M. (1979) Phytate and oxalate contents in sesame seed. *Nutr Rep Int.* 20:25–31
- Ussery, V. (2023). Plant Based Milk vs Cow's Milk: Which is Better?. <https://totaste.com/got-milk-which-one/> Erişim tarihi:17.02.2023
- Valencia-Flores, D.C., Hernández-Herrero, M., Guamis, B., Ferragut, V. (2013) Comparing the effects of ultra-high-pressure homogenization and conventional thermal treatments on the microbiological, physical, and chemical quality of almond beverages. *J Food Sci* 78(2):E199–E205
- Vanga, S.K., Raghavan, V. (2018) How well do plant based alternatives fare nutritionally compared to cow's milk? *J Food Sci Technol.* 55(1):10-20. doi: 10.1007/s13197-017-2915-y.
- Welsh, J.A., Braun, H., Brown, N., Um, C., Ehret, K., Figueroa, J., Boyd Barr, D. (2019) Production-related contaminants (pesticides, antibiotics and hormones) in organic and conventionally produced

milk samples sold in the USA. *Public Health Nutr.* 22(16):2972-2980. doi: 10.1017/S136898001900106X

Wiley, A.S. (2011) Milk intake and total dairy consumption: associations with early menarche in NHANES 1999-2004. *PLoS One.* 14;6(2):e14685. doi: 10.1371/journal.pone.0014685.

**PSYCHOBOTICS IN FERMENTED FOODS**  
**FERMENTE GIDALARDA PSİKOBİYOTİKLER**

**Neslihan AYAĞ<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Erzurum, Türkiye*  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3358-7149>

**Sümeyra IŞIK<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Erzurum, Türkiye*  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7203-1207>

**Elif DAĞDEMİR<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Erzurum, Türkiye*  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5610-0188>

**ABSTRACT**

The gut microbiota has important roles on human health, general well-being and brain functions. There is an interaction that called the gut-brain axis, between the gastrointestinal system and the central nervous systems. This interaction occurs through the nervous system, endocrine system, immune system and metabolic system. Thanks to this interaction, the gut-brain axis has a significant effect on mood and mental health. It is known that probiotics, which are an important group of intestinal microflora, have many benefits on health. Some probiotics also show psychobiotic properties by producing neuroactive compounds and metabolites. Psychobiotics are defined as probiotic microorganisms, act on the central nervous system through the systems forming the gut-brain axis and provide benefits in psychiatric diseases. *Lactobacillus (L.)*, *Lactococcus (Lc.)*, *Bifidobacterium (B.)* and *Streptococcus (S.)* strains are some of the microorganisms with psychobiotic properties. Considering the positive effects of psychobiotics on health, the use of these microorganisms in foods important. The consumption of fermented foods containing psychobiotics will have positive effects on neurodegenerative and psychiatric diseases. In addition, due to the diversity of flora in fermented foods, it is important to isolate microorganisms with psychobiotic properties from these foods. In this review, information about psychobiotics and their use in fermented foods is presented.

**Keywords:** Psychobiotics, gut-brain axis, fermented foods

**1. INTRODUCTION**

Various factors such as stress level, mood changes, diet, illness, physical activity affect the gut microbiota, which is effective on human physiological and psychological functions (Özer et al., 2019; Dinan et al., 2013). Studies demonstrated that the gut microbiota has essential roles on human health, general well-being and brain functions. This indicates that there is an interaction between the gastrointestinal system and the central nervous systems, called as the “gut-brain axis”. The gut-brain axis performs as a bidirectional communication channel between the gut microbiome and the brain. The gut microbiome is directly related to various psychiatric disorders such as anxiety, depression, Autism spectrum disorder, Tourette's syndrome, Parkinson's disease and Alzheimer's disease due to its effect on the central nervous system (Özer et al., 2019; Del Toro-Barbosa et al., 2020). Recently, many studies have focused on the psychobiotic properties of probiotic microorganisms, which have many health benefits and constitute an important part of the gut microbiota.

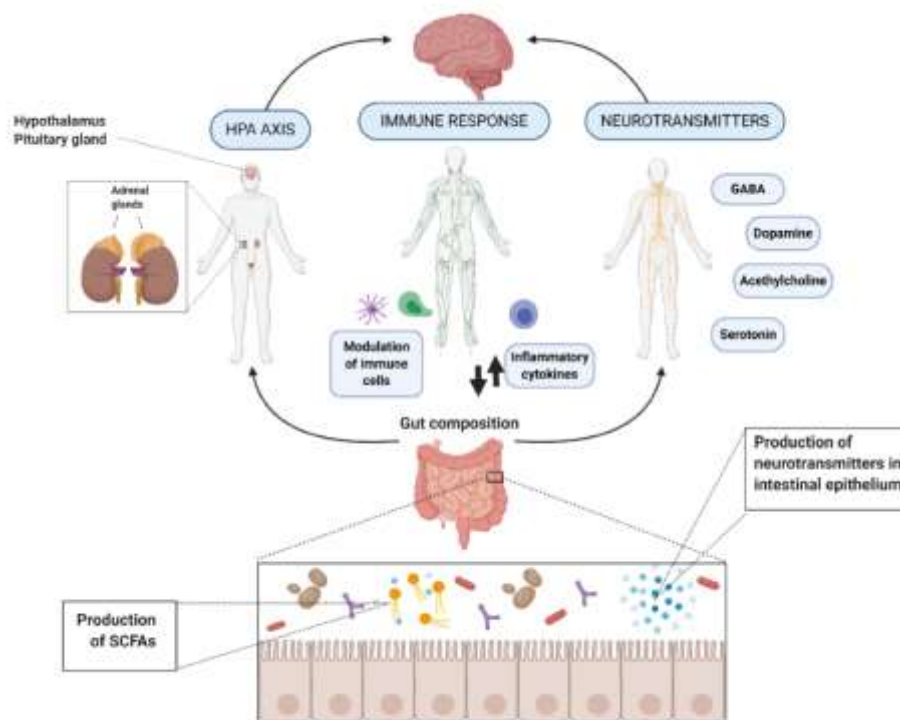
Psychobiotics are live microorganisms that have a healing effect on mental health by affecting the microbiota of the person, when ingested in adequate amounts (Dinan et al., 2013). These bacteria, which are known as a new class of probiotics, find wide application in psychopathology due to their positive psychiatric effects. When consumed, psychobiotics act on the gut-brain axis through interactions with commensal gut bacteria, leading to the secretion of various neuroactive substances, and providing mental health benefits to the host (Dinan et al., 2013; Magalhaes-Guedes et al., 2020; Casertano et al., 2022; Onaran Acar & Kanca, 2022). Psychobiotic microorganisms play an important role in brain behavior, emotional, neural and cognitive development by producing hormones, immune factors and metabolites. These microorganisms are used in the treatment of various diseases such as depression, stress, chronic fatigue and anxiety (Dinan et al., 2013; Cheng et al., 2019; Palepu & Dandekar, 2022; Zou et al., 2021; Onaran Acar & Kanca, 2022). Numerous bacterial strains such as *Lactobacillus* spp., *Saccharomyces* spp., and *Bifidobacterium* spp., known as traditional probiotics, have beneficial effects on the health of the gut microbiota. However, interestingly, it has been determined that these microorganisms, known as gut bacteria, can produce some neuroactive substances (serotonin, gamma-aminobutyric acid, dopamine, norepinephrine, etc.) that are beneficial to mental health, and have been referred as psychobiotic bacteria. *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lacticaseibacillus casei*, *L. acidophilus*, *L. helveticus*, *Serratia marcescens*, *B. infantis*, *B. longum*, *B. bifidum*, *S. thermophilus* are some of the organisms with psychobiotic properties (Cheng et al., 2019; Koçak & Acar Tek, 2019; Misra & Mohanty, 2019; Luang-In et al., 2020; Magalhaes-Guedes et al., 2020).

Considering the positive effects of psychobiotics on health, the action mechanisms of these microorganisms and their use in foods are important. In recent, the potential of fermented foods with psychobiotic properties, which are known to have positive effects on mental health, is one of the issues that has attracted attention. Given the flora diversity in fermented foods, isolating microorganisms with psychobiotic properties from these foods is another significant issue. In this study, information on psychobiotics, their action mechanisms and their use in fermented foods are presented in light of current research.

## 2. MECHANISM OF EFFECT OF PSYCHBIOTICS

Intestinal microbiota can exerts psychobiotic properties by affecting the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis, by affecting the immune system, or by producing neurotransmitters and some metabolites (Figure 1). The HPA axis is the primary neuroendocrine response system to physiological and physical stress in the human body (Del Toro-Barbosa et al., 2020). Excessive HPA axis responses have been associated with depression and anxiety disorders. It has been stated that the gut microbiota coordinates the HPA axis and it's activation decreases with probiotic intake (Aslam et al., 2020). In addition, psychobiotics are effective in mood, balance, cognitive functions, learning and memory formation by producing neurotransmitters such as  $\gamma$ -amino butyric acid, dopamine, serotonin, norepinephrine, as well as metabolites such as brain-derived neurotrophic factor (BDNF), short chain fatty acids (Del Toro-Barbosa et al., 2020; Özyürek & Özcan, 2020).





**Figure 1:** Mechanism of effect of psychobiotics (Del Toro-Barbosa et al., 2020)

GABA is a neurotransmitter formed as a result of decarboxylation of L-glutamate and has a tranquillizing effect in situations such as stress, anxiety, depression (Valenzuela et al., 2019; Redruello et al., 2021). Low levels of GABA in the brain are associated with neurological diseases such as Alzheimer's, Parkinson's, Schizophrenia, and Epilepsy (Ayag et al., 2022). Serotonin, another neurotransmitter, is formed as a result of the metabolism of tryptophan. Studies have linked low serotonin levels with depression. It is stated that probiotics have the potential to increase serotonin synthesis, and also increase tryptophan levels when administered chronically (Özyürek & Özcan, 2020). Dopamine and norepinephrine are neurotransmitters formed as a result of the metabolism of tyrosine. It has been reported that these substances have vital roles in motor skills, learning, memory formation, stress response and can be produced by psychobiotics (Del Toro-Barbosa et al., 2020).

Short-chain fatty acids (SCFA) such as acetate, lactate, propionate and butyrate are produced by fermentation of dietary fibers by psychobiotics (Baruah et al., 2022). Thus, consumed fibers have significant effects on the type and amount of SCFAs produced. SCFAs are effective in regulating the integrity of the epithelial barrier, the immune system and inflammatory responses. In addition, it may directly affect neural function by enhancing blood-brain barrier integrity, modulating neurotransmission, influencing levels of neurotrophic factors, and promoting memory consolidation. Therefore, it is stated that SCFAs have a potential role in the gut-brain axis (Del Toro-Barbosa et al., 2020). BDNF is a secretory protein that affects the development/functions of neurons and contributes to the health of important nerve pathways (Kazak & Yarım, 2015). Studies have shown that psychobiotic bacteria can produce molecules responsible for learning and memory, such as BDNF.

### 3. INFLUENCE OF FOODS FERMENTED BY PSYCHOBOTICS ON MENTAL HEALTH

Fermented foods, which are frequently consumed around the world, have positive effects on human health (Akdeniz Oktay & Özbaş, 2020). Fermented foods provide benefits on mental health as well as physiological effects with their rich flora, prebiotics and metabolites (Aslam et al., 2020). These foods have been demonstrated to have potential health benefits not only by protecting the intestinal barrier improving nutritional status or limiting the growth of pathogens, but also by influencing brain health with mechanisms of action such as the production of neurotransmitters, direct activation of neural pathways between gut and brain, modulating neurotrophic chemicals and showing analgesic properties

(Del Toro-Barbosa et al., 2020). These effects on mental and psychological health occur thanks to microorganisms with psychobiotic properties. Different types of psychobiotics modulate the gut microbiota. Therefore, a diet rich in probiotics affects the health, behavior and mood of the host by changing the functions of the gut-brain axis (Küçükvardar, 2021). The deterioration of the balance of the intestinal microbiota by various factors such as drug use, lifestyle, diet and stress is expressed as dysbiosis (Özyürek & Özcan, 2020; Küçükvardar, 2021). It has been reported that probiotic bacteria and fermented foods alleviate the symptoms of dysbiosis and are effective in neurodegenerative diseases (Baruah et al., 2022). There are studies that the development process of these diseases can be changed by maintaining the balance of the intestinal microbiota. Research on this subject is summarized below.

Recently, the therapeutic potential of GABA produced by lactic acid bacteria (LAB) in metabolic and behavioral problems has attracted attention. In various studies, it has been reported that LAB strains such as *L. brevis*, *L. plantarum*, *S. thermophilus*, *Lc. lactis*, *L. helveticus*, *L. paracasei* isolated from fermented foods such as cheese, yoghurt, pickles and sourdough produce high levels of GABA (Sun et al., 2009; Di Cagno et al., 2010; Liu et al., 2014; Villegas et al., 2016; Santos-Espinosa et al., 2020). Therefore, these fermented foods can naturally contain high amounts of GABA. Clinical studies have also shown that GABA supplementation through fermented foods is beneficial on mood. Van de Wouw et al. (2020) found that kefir fermented with *L. reuteri* may cure stress and fear-related behaviors and modulated the composition of intestinal microbiota in mice. In another study, was reported that soy milk fermented with the GABA producer *L. brevis* FPA 3709 significantly reduced the immobility time in depressed mice and such a product enriched with GABA was a good alternative for the treatment of depression (Ko et al., 2013). In addition, GABA plays an important role in the maintenance of sleep (Saygın & Özgüner, 2020). It was reported that milk containing high-dose GABA reduced anxiety and significantly prolonged sleep time in mice (Yu et al., 2020).

In clinical studies on mice, it has been determined that *L. plantarum* and *L. helveticus* strains isolated from fermented foods reduce stress, anxiety and depression-like behaviors by increasing the amount of serotonin, norepinephrine and dopamine (Liang et al., 2015; Liu et al., 2016; Morshedi et al., 2018; Liu et al., 2020; Wang et al., 2021). In a study, milk fermented using *L. casei* significantly increased the tryptophan and serotonin levels in the students compared to the placebo group and reduced the physical symptoms that occur in stress (Kato-Kataoka et al., 2016). Also, Desbonnet et al. (2008) reported that the probiotic *Bifidobacteria infantis* increased the amount of tryptophan, the precursor of serotonin and had antidepressant properties in mice.

Gao et al. (2019) found that fruit juice fermented with *L. plantarum* NCU116 increased the concentrations of acetic acid, propionic acid, butyric acid and total short chain fatty acids in the colonic contents of diabetic rats. In another study, stated that milk fermented by *L. brevis* DL1-11 and enriched with GABA increased the amount of SCFAs such as butyric acid also modulated the composition of the intestinal microbiota and prolonging sleep time in mice (Yu et al., 2020). According to researches, *B. breve*, *B. longum*, *L. helveticus* and *L. plantarum* strains increased the amount of BDNF in mice, thus reducing oxidative stress and providing neuronal protection (Ait-Belgnaoui et al., 2014; Morshedi et al., 2018; Tian et al., 2020).

#### 4. CONCLUSION

The human gut microbiota changes with the macro and micro nutrients taken into the body with nutrition. Many studies have shown that there is an interaction between the human gut microbiota and general mood. Therefore, it is important to understand the interaction mechanisms between the gut-brain axis. This situation attracts the attention of both consumers and researchers to the psychobiotic microorganisms. These microorganisms, which are a promising approach in the treatment of various psychiatric disorders such as anxiety, depression and stress, play a role in increasing the life quality of individuals. Also, it is thought that the use of psychobiotics can be a treatment method for individuals suffering from neurodegenerative disorders such as Alzheimer's, Parkinson's, motor neuron diseases. As a result, it is important to determine and investigate the efficacy and mechanism of psychobiotics, their presence in foods, and the potential of alternative treatment methods for diseases.

**5. REFERENCES**

- Ait-Belgnaoui, A., Colom, A., Braniste, V., Ramalho, L., Marrot, A., Cartier, C., ... & Tompkins, T. (2014). Probiotic gut effect prevents the chronic psychological stress-induced brain activity abnormality in mice. *Neurogastroenterology & Motility*, 26(4), 510-520.
- Akdeniz Oktay, B. & Özbaş, Z. Y., (2020). Fermente gıdaların insan sağlığı üzerindeki etkileri. *Gıda*, 45(6), 1215-1226.
- Aslam, H., Green, J., Jacka, F. N., Collier, F., Berk, M., Pasco, J., & Dawson, S. L. (2020). Fermented foods, the gut and mental health: a mechanistic overview with implications for depression and anxiety. *Nutritional neuroscience*, 23(9), 659-671.
- Ayag, N., Dagdemir, E., & Hayaloglu, A. A. (2022). Comparison of  $\gamma$ -aminobutyric acid and free amino acid contents of some common varieties of Turkish cheeses. *International Dairy Journal*, 128, 105285.
- Baruah, R., Ray, M., & Halami, P. M. (2022). Preventive and therapeutic aspects of fermented foods. *Journal of applied microbiology*, 132(5), 3476-3489.
- Casertano, M., Fogliano, V., & Ercolini, D. (2022). Psychobiotics, gut microbiota and fermented foods can help preserving mental health. *Food Research International*, 152, 110892.
- Cheng, L.H., Liu, Y.W., Wu, C.C., Wang, S., & Tsai, Y.C. (2019). Psychobiotics in mental health, neurodegenerative and neurodevelopmental disorders. *Journal of Food and Drug Analysis*, 27, 632-648.
- Del Toro-Barbosa, M., Hurtado-Romero, A., Garcia-Amezquita, L. E., & García-Cayuela, T. (2020). Psychobiotics: mechanisms of action, evaluation methods and effectiveness in applications with food products. *Nutrients*, 12(12), 3896.
- Desbonnet, L., Garrett, L., Clarke, G., Bienenstock, J., & Dinan, T. G. (2008). The probiotic *Bifidobacteria infantis*: an assessment of potential antidepressant properties in the rat. *Journal of Psychiatric Research*, 43(2), 164-174.
- Di Cagno, R., Mazzacane, F., Rizzello, C.G., De Angelis, M., Giuliani, G., Meloni, M., De Servi, B. & Gobbetti, M., (2010). Synthesis of  $\gamma$  -aminobutyric acid (GABA) by *Lactobacillus plantarum* DSM19463: functional grape must beverage and dermatological applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 86:731-41.
- Dinan, T.G., Stanton, C., & Cryan, J.F. (2013). Psychobiotics: A novel class of psychotropic. *Biological Psychiatry*, 74, 720-726.
- Gao, H., Wen, J. J., Hu, J. L., Nie, Q. X., Chen, H. H., Xiong, T., ... & Xie, M. Y. (2019). Fermented *Momordica charantia* L. juice modulates hyperglycemia, lipid profile, and gut microbiota in type 2 diabetic rats. *Food Research International*, 121, 367-378.
- Kato-Kataoka, A., Nishida, K., Takada, M., Suda, K., Kawai, M., Shimizu, K., ... & Rokutan, K. (2016). Fermented milk containing *Lactobacillus casei* strain Shirota prevents the onset of physical symptoms in medical students under academic examination stress. *Beneficial microbes*, 7(2), 153-156.
- Kazak, F. & Yarım, G. (2015). Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 10(2), 120-129.
- Ko, C. Y., Lin, H. T. V., & Tsai, G. J. (2013). Gamma-aminobutyric acid production in black soybean milk by *Lactobacillus brevis* FPA 3709 and the antidepressant effect of the fermented product on a forced swimming rat model. *Process Biochemistry*, 48(4), 559-568.
- Koçak, T., & Acar Tek, N. (2019). Psikobiyotikler ve Alzheimer ilişkisi. *International Young Researchers Student Congress (28-30 November 2019)*, Burdur/Türkiye.
- Küçükvardar, C. (2021). Genç yetişkinlerde probiyotik-psikobiyotik gıda tüketiminin vücut algısı ve benlik saygısı üzerine etkisi. *Master's thesis, Biruni Üniversitesi*.

- Liang, S., Wang, T., Hu, X., Luo, J., Li, W., Wu, X., ... & Jin, F. (2015). Administration of *Lactobacillus helveticus* NS8 improves behavioral, cognitive, and biochemical aberrations caused by chronic restraint stress. *Neuroscience*, 310, 561-577.
- Liu, H., Zhang, J., Yang, W. Q., Liu, Z. Y., Chen, X., Guo, H., Liu, B.Y., Zhang, C.G., Liu, Y.C., Liu, J.C. & Guan, H., (2014). Bio-synthesis of GABA by *Streptococcus thermophilus* QYW-LYS1 isolated from traditional fermented yoghurt. In *Advanced Materials Research* (Vol. 884, pp. 401-404). Trans Tech Publications Ltd.
- Liu, Y. W., Liu, W. H., Wu, C. C., Juan, Y. C., Wu, Y. C., Tsai, H. P., ... & Tsai, Y. C. (2016). Psychotropic effects of *Lactobacillus plantarum* PS128 in early life-stressed and naïve adult mice. *Brain research*, 1631, 1-12.
- Liu, G., Chong, H. X., Chung, F. Y. L., Li, Y., & Liong, M. T. (2020). *Lactobacillus plantarum* DR7 modulated bowel movement and gut microbiota associated with dopamine and serotonin pathways in stressed adults. *International journal of molecular sciences*, 21(13), 4608.
- Luang-In, V., Katisart, T., Konsue, A., Nudmamud-Thanoi, S., Narbad, A., Saengha, W., Wangkahart, E., Pumriw, S., Samappito, W., & Ma, N.L. (2020). Psychobiotic effects of multi strain probiotics originated from Thai fermented foods in a rat model. *Food Science of Animal Resources*, 40 (6), 1014-1032.
- Magalhaes-Guedes, K.T., Marques do Nascimento, A.S., da Anunciaçao, T.A., & Soares, S.E. (2020). Psychobiotics in daily food against psychiatric disorders. *African Journal of Food Science*, 14(6), 161-166.
- Misra, S., & Mohanty, D. (2019). Psychobiotics: A new approach for treating mental illness?. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59 (8), 1230-1236.
- Morshedi, M., Valenlia, K. B., Hosseinifard, E. S., Shahabi, P., Abbasi, M. M., Ghorbani, M., ... & Saghafi-Asl, M. (2018). Beneficial psychological effects of novel psychobiotics in diabetic rats: the interaction among the gut, blood and amygdala. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 57, 145-152.
- Onaran Acar, B., & Kanca, N. (2022). Psikobiyotikler: Depresyon ve anksiyete ile ilişkisi. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 31, 101-106.
- Özer, M., Özyurt, G., & Tellioglu Harsa, Ş. (2019). Probiyotik ve prebiyotiklerin bağırsak-beyin aksına etkisi. *Akademik Gıda*, 17 (2), 269-280.
- Özyürek, M. B., & Özcan, T. (2020). Psikobiyotik etki mekanizmaları ve bağırsak mikrobiyotası. *Uluslararası Bilim, Teknoloji ve Tasarım Dergisi*, 1(1), 59-77.
- Palepu, M.S.K., & Dandekar, M.P. (2022). Remodeling of microbiota gut-brain axis using psychobiotics in depression. *European Journal of Pharmacology*, 931, 175171.
- Redruello, B., Saidi, Y., Sampedro, L., Ladero, V., Del Rio, B., & Alvarez, M. A. (2021). GABA-producing *Lactococcus lactis* strains isolated from camel's milk as starters for the production of GABA-enriched cheese. *Foods*, 10(3), 633.
- Santos-Espinosa, A., Beltrán-Barrientos, L. M., Reyes-Díaz, R., Mazorra-Manzano, M. Á., Hernández-Mendoza, A., González-Aguilar, G. A., Sáyago-Ayerdi, S.G., Vallejo-Cordoba, B. & González-Córdova, A. F., (2020). Gamma-aminobutyric acid (GABA) production in milk fermented by specific wild lactic acid bacteria strains isolated from artisanal Mexican cheeses. *Annals of Microbiology*, 70(1), 1-11.
- Saygın, M. & Özgüner, M., (2020). Uykunun mikro yapısı ve mimarisi. *Uyku Bülteni*, 1(1), 19-29.
- Sun, T., Zhao, S., Wang, H., Cai, C., Chen, Y. & Zhang, H., (2009). ACE-inhibitory activity and gamma-aminobutyric acid content of fermented skim milk by *Lactobacillus helveticus* isolated from Xinjiang koumiss in China. *European Food Research and Technology*, 228(4), 607-612.

- Tian, P., O'Riordan, K. J., Lee, Y. K., Wang, G., Zhao, J., Zhang, H., ... & Chen, W. (2020). Towards a psychobiotic therapy for depression: *Bifidobacterium breve* CCFM1025 reverses chronic stress-induced depressive symptoms and gut microbial abnormalities in mice. *Neurobiology of Stress*, 12, 100216.
- Valenzuela, J. A., Flórez, A. B., Vázquez, L., Vasek, O. M. & Mayo, B., (2019). Production of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) by lactic acid bacteria strains isolated from traditional, starter-free dairy products made of raw milk. *Beneficial Microbes*, 10(5), 579-587.
- Van de Wouw, M., Walsh, A. M., Crispie, F., van Leuven, L., Lyte, J. M., Boehme, M., ... & Cryan, J. F. (2020). Distinct actions of the fermented beverage kefir on host behaviour, immunity and microbiome gut-brain modules in the mouse. *Microbiome*, 8(1), 1-20.
- Villegas, J. M., Brown, L., de Giori, G. S. & Hebert, E. M., (2016). Optimization of batch culture conditions for GABA production by *Lactobacillus brevis* CRL 1942, isolated from quinoa sourdough. *LWT-Food Science and Technology*, 67, 22-26.
- Wang, L., Li, S., Jiang, Y. U., Zhao, Z., Shen, Y., Zhang, J., & Zhao, L. (2021). Neuroprotective effect of *Lactobacillus plantarum* DP189 on MPTP-induced Parkinson's disease model mice. *Journal of Functional Foods*, 85, 104635.
- Yu, L., Han, X., Cen, S., Duan, H., Feng, S., Xue, Y., Tian, F., Zhao, J., Zhang, H., Zhai, Q. & Chen, W., (2020). Beneficial effect of GABA-rich fermented milk on insomnia involving regulation of gut microbiota. *Microbiological Research*, 233, 126409
- Zou, R., Tian, P., Xu, M., Zhu, H., Zhao, J., Zhang, H., Chen, W., & Wang, G. (2021). Psychobiotics as a novel strategy for alleviating anxiety and depression. *Journal of Functional Foods*, 86, 104718.

**ELUCIDATING THE INHERITANCE PATTERN OF SOME PHYSIOLOGICAL  
CHARACTERISTICS IN SOYBEAN (*Glycine max* L.) UNDER HEAT STRESS**

**Volkan Mehmet ÇINAR<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>Postdoctoral Researcher, Faculty of Agriculture, Department of Field Crops, Aydın Adnan Menderes University, Aydın, Türkiye.

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5822-5649>

**Aydın ÜNAY<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>Faculty of Agriculture, Department of Field Crops, Aydın Adnan Menderes University, Aydın, Türkiye.

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7278-4428>

**ABSTRACT**

Heat stress disturbs plants' morphological, physiological, and biochemical processes; ultimately, it reduces the yield and quality of important crops such as soybean. Developing high temperature-tolerant genotypes is one of the most important strategies in order to cope with heat stress. Therefore, we aimed (I) to dissect the inheritance of physiological characteristics relating to photosynthesis performance and (II) to determine the combining ability effects of parents and hybrid genotypes under heat stress to develop heat-tolerant genotypes. We selected Arisoy, Pınar, Samsoy, Ataem-7 and Blaze cultivars as parents according to previously released official cultivar registration reports. Parents were crossed by using a half-diallel mating design in 2019 at the Black Sea Agricultural Research Institute. Then, parental cultivars and their ten F<sub>1</sub> populations were tested under heat stress in 2020 at Aydın Adnan Menderes University Agriculture Faculty's Experimental Area. Heat stress was artificially created by a mobile high tunnel with polyethylene film in the flowering (R1) and the seed-filling stages (R5) under field conditions. Physiological characteristics like canopy temperature depression (CTD), SPAD, stomatal conductance (gs) and Fv/Fm were measured and performed the diallel analyses at both growing stages since the effects of heat stress on inheritance patterns could differ according to the stage when it occurs. The performance of parents and crosses varied according to the growing stage and each physiological characteristic. However, Jinks-Hayman type diallel analysis revealed that non-additive genes controlled all characteristics at both growing stages. In conclusion, Arisoy and Blaze as parents, as well as the crosses Pınar x Ataem-7 (2x4), Pınar x Samsoy (2x3) and Arisoy x Blaze (1x5), which have the best performance and positive combining ability effects, were favourably determined for CTD, SPAD and gs, and therefore these genotypes can be used to improve heat stress tolerance in further soybean breeding studies.

**Keywords:** Canopy temperature depression, combining ability, Fv/Fm, gene action, SPAD, stomatal conductance.

**1. INTRODUCTION**

Soybean (*Glycine max* L. Merr.), a legume species, is the most valuable edible oil and protein source field crop worldwide (Hartman et al., 2011). It is also used in a variety of food and industrial products, including soy milk, animal feed, biodiesel, and many others. Soybean is widely grown in many countries around the world. Some of the major soybean-producing countries include USA, Brazil and Argentina. Türkiye produces about 155.000 tonnes of soybean and is ranked 47 across the world in total production (FAO, 2023). The specific growing areas within each region vary depending on temperature, rainfall, soil quality, and other favourable environmental factors for soybean growth.

Abiotic stress is the result of exposing plants to unfavourable environmental conditions, such as heavy metals, high salinity, excessive sun radiation, freezing temperatures, severe droughts, and extremely

high temperatures (Nilsen & Orcutt, 1996). Heat stress is the most significant environmental factor influencing plant physiology, such as photosynthesis, respiration, transpiration, growth, development, and yield, among these stressors (Stone, 2001; Puteh, 2013). The reproductive processes are hampered by the stress-induced changes in plant physiology, which ultimately lead to a significant loss in yield (Barnabás et al. 2008, Hedhly et al. 2009, Zinn et al. 2010). Heat stress also impairs biochemistry and gene regulation pathways (Bita & Gerats, 2013).

By the end of the twenty-first century, the global surface temperature will have increased by 3.3 to 5.7, likely range, according to SSP5-8.5 (IPCC, 2021). More crucially, estimates based on research of global climate models indicate that the world's tropical and subtropical regions, which are the main soybean-cultivated areas, will be the hardest affected by the forthcoming disaster of heat stress. Schlenker & Roberts (2009) estimated that soybean yield could be reduced by about 46% before 2100 due to extreme temperatures. Moreover, in another study, according to the trends of temperature change that occurred in the USA between 1976 and 2006, a future yield drop of 16% in soybean has been predicted (Kucharik and Serbin 2008).

The degree to which a plant is susceptible to high temperatures depends on its developmental stage, with heat stress having some impact on all vegetative and reproductive phases. The observed effects of heat stress depend on species and genotype, with abundant inter- and intra-specific variations. (Barnabás et al., 2008; Sakata & Higashitani, 2008). Like the other field crop species, soybean's most susceptible phenological phases to heat stress are the flowering (R1&R2) and the beginning of seed filling (R5) stages. In both stages, heat stress reduces the seed yield by disturbing the photosynthetic capacity (Djanaguiraman et al., 2013).

Early consequences of heat stress include structural changes in chloroplast protein complexes and decreased enzyme function (Ahmad et al., 2010). The thylakoid membrane system and the photochemical changes in the carbon flux of chloroplast stroma are thought to be the main sites of heat injury (Wise et al., 2004). Heat stress decreases plant photosynthetic and respiratory activities (Todorov et al., 2003; Sharkey & Zhang, 2010). Previous studies reported that canopy temperature depression, SPAD (leaf greenness or chlorophyll content), photochemical efficiency of photosystem II (Fv/Fm) and stomatal conductance measurements relating to photosynthesis are positively associated with heat stress tolerance and yield. Therefore, we aimed to elucidate the inheritance pattern of these physiological characteristics and describe genotypes' combining abilities in order to use them in the next heat-tolerant breeding studies under artificial heat stress created at field conditions.

## 2. MATERIALS AND METHODS

### Material

Arisoy, Pinar, Samsoy, Ataem-7 and Blaze, selected as parents due to their heat stress tolerance, based on previously released official cultivar registration reports, were crossed in a half-diallel mating design during 2019 in the Black Sea Agricultural Research Institute in Türkiye. According to reports of the Variety Registration and Seed Certification Center (TTSM, 2019), Arisoy and Blaze are heat tolerant, Pinar and Ataem-7 are moderately heat tolerant, while Samsoy is sensitive to heat stress.

### Hybridization and Experimental Procedures

Hybrids and their parents were planted by hand in a Randomized Complete Block Design (RCBD) with three replications on 12.05.2020 at the field trial area of the Faculty of Agriculture of Aydın Adnan Menderes University (37°45' N, 27°45' E), where is located Aegean Climatic Zone, in Türkiye. The parcels were set up so that each genotype had one row that was 5 m long, with a spacing of 70 and 5 cm inter-row and intra-row, respectively. The soil of the trial area is identified by clay loam with high pH (8.45) and high lime content, low salinity and low levels of organic matter (0.80%). Prior to sowing, *Rhizobium japonicum* bacteria were uniformly inoculated to the seeds of all parents and hybrids, and a basal fertilizer rate of 36 N kg/ha and 92 P kg/ha from Diammonium Phosphate was also used. We irrigated the trial field four times, when before flowering, the stage of pod set, the beginning of the seed filling stage, and the beginning of seed filling, using a drip irrigation system. In addition, other cultural management, such as weed and pest control, were also applied according to local practices.

Figure 1 shows that the mean and maximum temperatures in the trial area, except in June, were higher during the growing season than they were over the long term. Furthermore, the growing season's total monthly rainfall, except June, is considerably less than it has been over the long years.

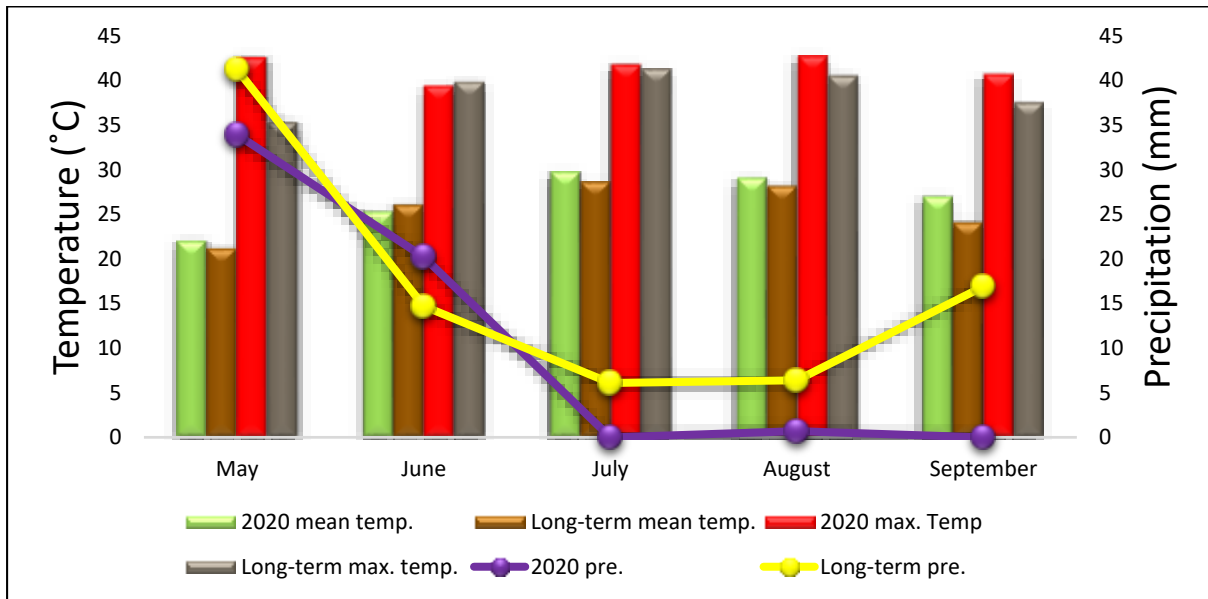


Figure 1. Climatic variables during the field experiment

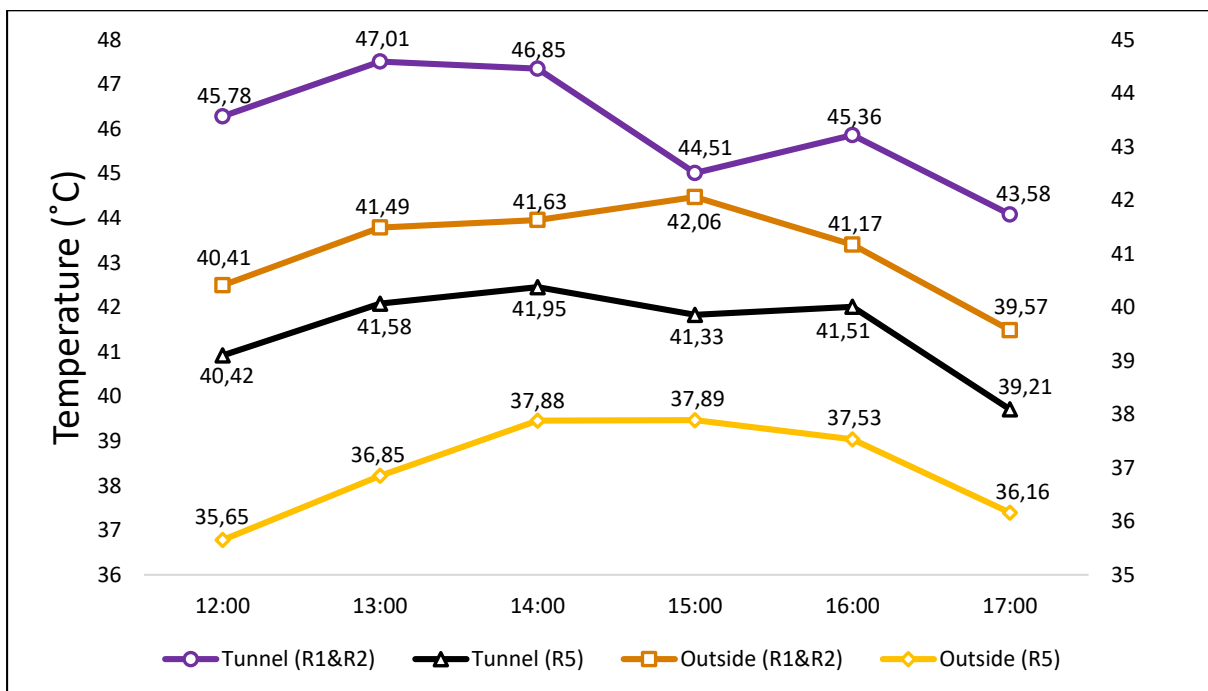


Figure 2. Tunnel within and outside temperatures during heat stress treatment

### Heat Stress Treatment Procedure

All genotypes, which include parents and hybrids, were subjected to artificial heat stress throughout R1&R2, which is the stage of beginning bloom & full bloom, respectively, and R5, which is the stage of the beginning of seed filling (Figure 3). The heat stress threshold was planned as up to 5 °C more than the trial area's ambient temperature based on the SSP5-8.5 global emission scenario, the most pessimistic, estimated by IPCC (2014) for the 2100 year. This scenario predicted that global mean terrestrial temperature will possibly rise 2.6 to 4.8 °C in 2081-2100 compared to before the industrial revolution. Indeed, this estimate was confirmed by the Sixth Assessment Report of IPCC (2021). Besides, the last report released in 2021 updated the projection of temperature increase in the mentioned



scenario as 3.3 to 5.7 °C for 2081-2100. A portable high tunnel with polyethylene plastic film (100 µm thickness) was used to create heat stress under field conditions (Figure 4). Before the R1 stage, the tunnel frame was built up; however, the plastic cover was mounted to the frame during heat stress not to prevent light transmittance. Furthermore, to ensure enough fresh gas exchange, particularly CO<sub>2</sub> exchange, both head sides of the tunnel were left open 0.50 m above ground level (non-hermetic) (Molino, 2011; Ergo et al., 2018).



**Figure 3.** Phenological stages created heat stress.



**Figure 4.** The plastic tunnel used to heat stress

Heat stress was continued for five days at R1&R2 (02.07.2020 – 06.07.2020) and R5 stages (07.08.2020 – 11.08.2020) from 11:00 to 17:00 hours. When the temperature inside the tunnel advanced 50 °C, both sides of the tunnel were manually opened approximately 1 m above ground level between 14:00 and 15:00 to minimise the damaging effects of extremely high temperatures on plant morphology, such as the leaf firing. Similarly, Schittenhelm et al. (2020) used ventilation flaps placed in a plastic chamber to balance extremely high temperatures. After balancing the temperature within the tunnel, the plastic film was covered completely again from 15:00 to 17:00 hours (Figure 2). Finally, plastic film was uncovered as soon as the heat stress had ended so that the tunnel's inside environmental conditions were balanced with the outside ambient.

Throughout the heat stress treatment period, four portable transmitter data loggers and two thermo-hygrometers (KlimaLogg Pro®, TFA Dosmann, Wertheim-Reicholzheim, Germany) automatically recorded the air temperature of the tunnel's inside and outside every 1 hour. These sensors were placed at the plant canopy's height and equally distributed inside and outside the tunnel (Figure 5).



**Figure 5.** Data logger and wireless transmitter used to record temperature values during heat stress.

### Data Collection

Canopy temperature throughout heat stress was recorded four times from south, north, east and west with a 45° angle above plant communities for each genotype using a hand-held infrared thermometer, and four data were averaged (Raytek Raynger ST60 infrared non-contact thermometer, Raytek Corporation, Santa Cruz, CA, USA). Then, canopy temperature depression (CTD) was calculated following the formula. CTD is positive and high when the plant canopy is cooler than the air.

Canopy temperature depression (CTD) = Ambient air temperature ( $T_a$ ) – Canopy temperature ( $T_c$ ).

In addition, SPAD, chlorophyll fluorescence –maximum quantum yield of photosystem II– ( $F_v/F_m$ ) and stomatal conductance ( $g_s$ ;  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) values were measured from the uppermost fully expanded leaves of five plants of each genotype in each plot one-day after heat stress (SPAD 502 Plus Chlorophyll Meter, Konica Minolta Company, Japan; Pocket PEA, Hansatech Instruments, England; Leaf Porometer, METER Group, America used tools for physiological observes, respectively). The physiological measurements were recorded between 11:00 to 14:00 h, which solar radiation intensity being constant on cloudless days and windless than  $5 \text{ km h}^{-1}$  (Ergo et al., 2018).

### Data Analysis

Before performing variance analysis, the homogeneity test of the genotype' error variances was conducted. Then, the analysis of variance for each trait by the Randomized Complete Block Design (RCBD) was performed using the 'agricolae' package (Mendiburu & Mendiburu, 2019) in R studio to see if there were any significant differences between genotypes and whether other genetic analyses can be run. The means of each genotype were compared with the LSD test at  $p < .05$  (Steel and Torrie, 1980). In the DIAL statistical package, the analysis of variance of half-diallel tables was carried out in accordance with Jones' modification (1965), which followed Hayman (1954a) (Ukai, 1998). In addition, in TARPOGEN statistical software (Ozcan, 1999), diallel hybrid analysis was executed according to Jinks-Hayman (1953), Jinks (1954), and Hayman (1954a, 1954b), while the general and specific combining ability effects were estimated the Method II Model I suggested by Griffing (1956). Broad and narrow degrees of heritability have been calculated by Crumpacker and Allard (1962) and Mather and Jinks (1971), respectively.

## 2. RESULTS AND DISCUSSION

The analysis of variance showed to be highly significant ( $p < .01$ ) differences among genotypes in all the observed characteristics. These findings mean sufficient genetic diversity among genotypes (parents and hybrids) for heat stress tolerance, enabling further diallel analyses and describing favourable parents and promising hybrids. Moreover, general combining ability (GCA) variance was significant in all observed characteristics except for canopy temperature depression (CTD) at the R1 stage. Similarly, specific combining ability (SCA) variance was highly significant in all observed characteristics (Table 1).

**Table 1.** The result of analysis of variance and combining ability variances for the observed characteristics.

SOV	Rep.	Genotypes	Error	GCA	SCA	
df	2	14	28	4	10	
Characteristics	Mean of Squares					GCA /SCA
CTD (R1)	0.21	1.40**	0.12	0.04	0.64**	0.06
CTD (R5)	0.10	0.72**	0.06	0.30**	0.21**	1.43
SPAD (R1)	0.04	4.30**	0.02	2.19**	1.12**	1.96
SPAD (R5)	0.19	6.83**	0.40	1.19**	2.71**	0.44
gs (R1)	3.08	1400.56**	1.08	35.41**	51.27**	0.69
gs (R5)	1.42	818.32**	1.35	15.89**	31.83**	0.50
Fv/Fm (R1)	0.002	0.206**	0.003	0.06**	0.07**	0.86
Fv/Fm (R5)	0.03	0.222**	0.015	0.09*	0.07**	1.29

\*: Significant at  $p < .05$  and \*\*: Significant at  $p < .01$ . SOV: Source of variation; df: Degrees of freedom; Rep: Replications; GCA: The variance of general combining ability effects; SCA: The variance of specific combining ability effects. CTD: Canopy temperature depression ( $^{\circ}\text{C}$ ); gs: Stomatal conductance ( $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ); Fv/Fm: Chlorophyll fluorescence.

We found the best (coolest) canopy temperature depression in Arısoy x Blaze (1x5) at R1 ( $12.60^{\circ}\text{C}$ ) and Pınar x Samsoy (2x3) at R5 stage ( $9.77^{\circ}\text{C}$ ). SPAD values ranged from 42.61 (Arısoy) to 38.81 (Samsoy x Blaze; 3x5) at R1, whereas they varied from 53.62 (Arısoy x Blaze; 1x5) to 48.14 (Arısoy x Samsoy; 1x3) at R5. For stomatal conductance, we measured the values of genotypes from 40.27 in Arısoy x Samsoy (1x3) to 68.45  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  in Blaze at R1 while we recorded from 18.75 in Samsoy x Ataem-7 (3x5) to 34.66  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  in Arısoy x Blaze (1x5) at R5. Finally, we determined the values of Fv/Fm between 0.72 (Pınar x Samsoy; 2x3) to 0.62 (Pınar x Blaze; 2x5) at R1, whereas detected from 0.74 (1x4, 2x5, 3x5) to 0.66 (Pınar x Samsoy; 2x3) in R5 (Table 2).

It can be said that Arısoy and Blaze were generally the best general combiners for studied characteristics (Table 2). However, the general combining abilities of parents differed in both stages. This means that gene expressions can vary according to phenological stages. Therefore, the combining ability performances of genotypes could be unstabilised. In light of this fact, selecting parents for designed breeding programmes to improve any abiotic stress tolerance of genotypes should be meticulously made by evaluating target characteristics in a phenological phase where stress is the most harmful to the plant.

Pınar x Samsoy (2x3) was one of the hybrid combinations with the best SCA effects for canopy temperature depression in both stages. The best hybrid for SPAD was Arısoy x Ataem-7 (1x4) in R1, whereas the Arısoy x Blaze (1x5) was the best in R5. The significant SCA effects were found in Arısoy x Blaze (1x5), Pınar x Samsoy (2x3) and Samsoy x Ataem-7 (3x4) for stomatal conductance in R1. For Fv/Fm parameter, Pınar x Samsoy (2x3) and Arısoy x Samsoy (1x3) were the best crosses in R1, while Arısoy x Ataem-7 (1x4), Pınar x Blaze (2x5) and Samsoy x Blaze (3x5) were the best combinations in R5 (Table 2).

**Table 2.** Mean performances and combining ability effects of genotypes for observed characteristics at both stages under heat stress. Bold and italic values indicate GCA and SCA.

Gen.	CTD (R1)	CTD (R5)	SPAD (R1)	SPAD (R5)	gs (R1)	gs (R5)	Fv/Fm (R1)	Fv/Fm (R5)
Arisoy (1)	11.67 <b>-0.08</b>	8.24 <b>-0.17**</b>	42.61 <b>0.82**</b>	52.33 <b>0.59**</b>	63.16 <b>-0.52**</b>	28.87 <b>1.60**</b>	0.69 <b>0.05**</b>	0.68 <b>-0.09**</b>
Pinar (2)	10.69 <b>-0.06</b>	9.52 <b>0.32**</b>	40.51 <b>-0.27**</b>	49.41 <b>0.14</b>	53.19 <b>-0.75**</b>	33.44 <b>0.44**</b>	0.67 <b>-0.01</b>	0.67 <b>-0.13**</b>
Samsoy (3)	11.22 <b>-0.01</b>	8.90 <b>0.05</b>	42.32 <b>-0.14**</b>	49.44 <b>-0.48**</b>	53.67 <b>-2.74**</b>	33.64 <b>0.61**</b>	0.66 <b>0.13**</b>	0.70 <b>-0.01</b>
Ataem-7 (4)	11.14 <b>0.07</b>	9.04 <b>-0.01</b>	40.78 <b>0.22**</b>	50.07 <b>-0.27*</b>	58.62 <b>0.70**</b>	30.00 <b>-0.21**</b>	0.63 <b>-0.12**</b>	0.71 <b>0.10**</b>
Blaze (5)	10.91 <b>0.08</b>	8.60 <b>-0.19**</b>	40.63 <b>-0.66**</b>	49.61 <b>0.01</b>	68.45 <b>3.35**</b>	22.60 <b>-2.43**</b>	0.68 <b>-0.06**</b>	0.72 <b>0.13**</b>
1x2	10.80 <b>-0.67**</b>	8.42 <b>-0.64**</b>	42.43 <b>0.84**</b>	51.97 <b>0.29</b>	55.08 <b>-2.55**</b>	21.58 <b>-8.21**</b>	0.66 <b>-0.15**</b>	0.68 <b>0.04</b>
1x3	10.57 <b>-0.94**</b>	8.94 <b>0.15</b>	41.30 <b>0.40**</b>	48.14 <b>-2.92**</b>	40.26 - <b>15.24**</b>	31.81 <b>1.85**</b>	0.71 <b>0.21**</b>	0.69 <b>-0.05</b>
1x4	11.75 <b>0.16**</b>	9.32 <b>0.59**</b>	42.58 <b>0.52**</b>	51.41 <b>0.15</b>	62.23 <b>3.25**</b>	31.91 <b>2.77**</b>	0.65 <b>-0.14**</b>	0.74 <b>0.38**</b>
1x5	12.60 <b>1.00**</b>	9.12 <b>0.57**</b>	40.32 <b>-0.85**</b>	53.62 <b>2.07**</b>	65.36 <b>3.73**</b>	34.66 <b>7.74**</b>	0.64 <b>-0.24**</b>	0.67 <b>-0.38**</b>
2x3	12.41 <b>0.88**</b>	9.77 <b>0.50**</b>	39.02 <b>-1.61**</b>	53.23 <b>2.63**</b>	64.87 <b>9.59**</b>	27.92 <b>-0.88</b>	0.72 <b>0.36**</b>	0.66 <b>-0.28**</b>
2x4	12.33 <b>0.72**</b>	9.24 <b>0.02</b>	41.71 <b>0.72**</b>	51.42 <b>0.61*</b>	60.83 <b>2.08**</b>	31.50 <b>3.52**</b>	0.67 <b>0.18**</b>	0.68 <b>-0.15**</b>
2x5	12.28 <b>0.66**</b>	9.23 <b>0.19*</b>	40.20 <b>0.10*</b>	51.20 <b>0.10</b>	60.50 <b>0.90**</b>	21.75 <b>-4.01**</b>	0.62 <b>0.38**</b>	0.74 <b>0.43**</b>
3x4	12.21 <b>0.54**</b>	8.72 <b>-0.22*</b>	41.33 <b>0.24**</b>	50.55 <b>0.37</b>	62.40 <b>5.68**</b>	18.75 <b>-9.40**</b>	0.68 <b>0.08**</b>	0.72 <b>0.14**</b>
3x5	11.92 <b>0.25</b>	8.52 <b>-0.24**</b>	38.81 <b>-1.40**</b>	51.47 <b>0.99**</b>	58.51 <b>-0.87**</b>	25.01 <b>-0.92**</b>	0.69 <b>0.11**</b>	0.74 <b>0.24**</b>
4x5	11.54 <b>-0.21</b>	8.00 <b>-0.70**</b>	40.47 <b>-0.10*</b>	50.21 <b>-0.47</b>	54.98 <b>-7.86**</b>	22.87 <b>-2.23**</b>	0.66 <b>0.10**</b>	0.71 <b>-0.17**</b>
Mean of Parents	11.13 ±0.05	8.86 ±0.06	41.37 ±0.12	50.17 ±0.14	59.42 ±0.75	29.71 ±0.52	0.67 ±0.003	0.70 ±0.002
Mean of Hybrids	11.84 ±0.07	8.93 ±0.05	40.82 ±0.11	51.32 ±0.13	58.50 ±0.60	26.78 ±0.45	0.67 ±0.002	0.70 ±0.003
Grand Mean	11.59 ±0.05	8.90 ±0.04	41.01 ±0.08	50.92 ±0.10	58.82 ±0.40	27.81 ±0.35	0.67 ±0.002	0.70 ±0.002
LSD <sub>(0.05)</sub>	0.57	0.39	0.23	1.06	0.55	0.62	0.095	0.020

\*: Significant at  $p < .05$  and \*\*: Significant at  $p < .01$ . CTD: Canopy temperature depression ( $^{\circ}\text{C}$ ); gs: Stomatal conductance ( $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ); Fv/Fm: Chlorophyll fluorescence.

Even though half diallel analysis proposed by Jones (1965) indicated that additive (a) and non-additive (b) genetic components of variance were significant for studied characteristics except CTD (R1), the non-additive genetic variance (b) had a greater proportion than additive genetic variance (a) in the most of characteristics under heat stress (Table 3). These findings were verified by GCA/SCA ratio, which is lower than the unit, for all studied characteristics (Table 1). According to Jones and Griffing's analyses, it could be stated that non-additive gene effects under heat stress conditions majorly governed the inheritance of most characteristics. The significance of the 'b<sub>1</sub>' parameter implied that, for most traits, the dominance deviation was in one direction under heat stress. The 'b<sub>2</sub>' parameter explains the gene distribution of dominant and recessive genes between parents in the F<sub>1</sub> generation. This parameter was

significant for all characteristics except Fv/Fm (R5), explaining asymmetrical gene distribution between parents. Also, the 'b<sub>3</sub>' parameter, showing residual dominance effect due to specific gene complex (SCA), was significant in all characteristics except CTD (R5) under heat stress.

**Table 3.** Mean squares obtained from analysis of genetic variance components from the half-diallel table, as suggested by Jones, and estimates of genetic variance components and ratios for observed characteristics, as suggested by Jinks-Hayman.

Comp.	CTD (R1)	CTD (R5)	SPAD (R1)	SPAD (R5)	gs (R1)	gs (R5)	Fv/Fm (R1)	Fv/Fm (R5)
a	0.12	1.11**	6.72**	4.01**	1067.19**	475.09**	0.37**	1.46**
b	2.33**	0.79**	3.23**	8.52**	1534.39**	956.27**	0.38**	0.41**
b <sub>1</sub>	5.88**	0.01	1.60**	16.04**	84.03**	852.64**	0.18**	0.04
b <sub>2</sub>	1.70**	0.31*	5.77**	4.51**	972.60**	650.80**	0.40**	0.00
b <sub>3</sub>	2.12**	1.32	1.53**	10.22**	2273.39**	1221.36**	0.40**	0.80**
<b>Comp.</b>								
E	0.04	0.02	0.01	0.13	0.43	0.45	0.00	0.01
D	0.14	0.24	0.97	1.95	420.42	202.58	0.05	0.04
H <sub>1</sub>	2.67	1.03	5.07	11.18	2165.92	1307.31	0.33	0.31
H <sub>2</sub>	2.32	1.03	4.75	10.25	2037.26	1198.48	0.27	0.34
D-H <sub>1</sub>	-2.53	-0.79	-4.10	-9.23	-1745.51	-1104.73	-0.28	-0.27
F	0.41	0.17	0.82	2.53	500.38	286.14	0.09	-0.01
h <sup>2</sup>	1.29	0.00	0.88	3.30	21.67	219.13	0.00	0.01
<b>Ratios</b>								
(H <sub>1</sub> /D) <sup>0.5</sup>	4.41	2.08	2.29	2.40	2.27	2.54	2.52	2.76
H <sub>2</sub> /4H <sub>1</sub>	0.22	0.25	0.23	0.23	0.24	0.23	0.21	0.27
KD/KR	2.04	1.41	1.45	1.74	1.71	1.77	2.13	0.92
h <sup>2</sup> /H <sub>2</sub> =K	0.55	0.00	0.19	0.32	0.01	0.19	0.01	0.02
h <sup>2</sup> (b.s)	0.46	0.63	0.97	0.57	0.98	0.97	0.89	0.68
h <sup>2</sup> (n.s)	0.05	0.20	0.18	0.18	0.20	0.17	0.18	0.11
r	0.18	0.90	0.42	0.58	0.33	0.60	0.64	-0.51

\*: significant at  $P \leq .05$  and \*\*: significant at  $P \leq .01$ . a: The variance of additive effects; b: The variance of dominance effects; b<sub>1</sub>: The direction of dominance effects; b<sub>2</sub>: The component of gene's distribution among parents; b<sub>3</sub>: Residual dominance due to specific gene complex (SCA); E: Environmental variance; D: The variation due to the additive effects; H<sub>1</sub>: Variance due to the dominance effect of genes; H<sub>2</sub>: Corrected variance due to the dominance effect of genes; F: Relative frequency of alleles; h<sup>2</sup>: Mean dominance effect of heterozygote locus; (H<sub>1</sub>/D)<sup>0.5</sup>: Mean degree of dominance; H<sub>2</sub>/4H<sub>1</sub>: The proportion of genes with positive and negative effects in parents; KD/KR: Dominant genes/recessive genes; h<sup>2</sup> (b.s.): Broad-sense heritability degree; h<sup>2</sup> (n.s.): Narrow-sense heritability degree; r: The correlation between  $W_r + V_r$  and parent means ( $Y_r$ ); CTD: Canopy temperature depression (°C); gs: Stomatal conductance ( $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ); Fv/Fm: Chlorophyll fluorescence.

Table 3 shows the value of the parameters of genetic variance suggested by Jinks-Hayman. Additive genetic effects (D) were lower than the dominant genetic effects (H<sub>1</sub> & H<sub>2</sub>) for all studied characteristics under heat stress. This result was supported by the average degree of dominance (H<sub>1</sub>/D)<sup>0.5</sup>, which was larger than a unit for all characteristics, indicating the presence of overdominance affecting all characteristics. Indeed, these inferences were in accord with Jones and Griffing's analyses. H<sub>1</sub> and H<sub>2</sub> genetic parameters exhibit whether positive (u) and negative (v) alleles are regularly distributed in equal frequency among the parents. For all characteristics except CTD (R5), the value of H<sub>1</sub> and H<sub>2</sub> was unequal, showing alleles were irregularly distributed in unequal frequency among the parents. In addition, this finding was reinforced by the H<sub>2</sub>/4H<sub>1</sub> ratio, which implies the distribution of favourable (u) and unfavourable (v) alleles in dominant loci among parents for the expression of all characteristics

because this ratio was unequal to 0.25 for all characteristics except CTD (R5). Moreover, the difference between  $H_1$  and  $H_2$  and unequal to 0.25 the ratio of  $H_2/4H_1$  parallel with the 'b<sub>2</sub>' parameter, which was significant for all characteristics except Fv/Fm (R5). The F value reveals the relative frequency of dominant and recessive genes in the parents. This parameter was positive for all characteristics except Fv/Fm (R5), indicating that dominant genes were more frequent in the parents under heat stress. At the same time, this finding was verified by KD/KR, which exhibits the ratio of dominant and recessive genes in parents since this ratio was detected to be more than a unit, showing the dominant alleles governed all characteristics except Fv/Fm (R5). The overall dominance effects of heterozygous loci ( $h^2$ ) were positive for CTD (R1), SPAD (R5), gs (R1) and gs (R5). This result again highlights that dominance variance was important in the inheritance of these traits under heat stress conditions. The value of K ( $h^2/H_2$ ), which exhibits the number of genes in the expression of characteristics, was less than a unit for all characteristics, showing that these characteristics were controlled by approximately one gene group. The negative correlation ( $r$ ) between  $W_r + V_r$  and parent means ( $Y_r$ ) implies that parents with a high value for the characteristics of the interest have dominant genes supporting the characteristic improvement, whereas a positive correlation expresses that parent with a low value for considered characteristics has recessive genes diminishing the characteristics (Table 3).

The narrow-sense heritability degrees were lower than the broad-sense heritability degrees for all characteristics. The heritability degree in narrow-sense varied between 0.05 for CTD (R1) and 0.20 for CTD (R5) and gs (R1) under heat stress conditions, supposing the important role of the other genotypic variances (epistatic gene effects) and environment in controlling all characteristics (Table 3).

Karyawati et al. (2015) announced that stomatal conductance was governed by additive gene actions in soybean (*Glycine max* L.) at the R1 stage, and three of six parents had general combining ability effects in a desirable direction. It was determined that narrow-sense heritability for CTD in soybean over six different environments ranged from 0.07 to 0.62 and was an average of 0.35 across environments (Bazzer & Purcell, 2020). In wheat (*Triticum aestivum* L.) at the anthesis stage, the narrow-sense heritability degree for canopy temperature depression was estimated as 0.52 under normal conditions (Shrestha et al., 2023). In contrast, the broad-sense heritability degree for CTD in wheat was calculated as 0.29 and 0.37 under heat stress and normal conditions, respectively (Mason et al., 2013). In addition, Ali et al. (2018) stated that CTD and gs were controlled by non-additive gene action (dominance and over-dominance) in maize (*Zea mays* L.) under heat stress. Additionally, it was reported that the additive gene action was predominantly important in the inheritance of SPAD in maize (Mwanza et al., 2020). Regarding water stress, Kamara et al. (2022) found that the non-additive gene action was superior in the inheritance of Fv/Fm in wheat. Rahman (2005) highlighted that additive and dominant gene effects had a joint role in the inheritance of stomal conductance in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) under heat stress. In another study on wheat, broad-sense heritability degrees for CTD at vegetative and grain-filling stages were detected as 0.84 and 0.91, respectively, while the broad-sense heritability degree for SPAD at the grain-filling stage was estimated as 0.59 (Hossain et al., 2021). Furthermore, it was found that SPAD was governed by non-additive gene actions in wheat (Kamara et al., 2021). Ramya et al. (2021) found that both additive and non-additive gene actions were important in the inheritance of stomatal conductance in wheat, while they expressed that narrow-sense heritability for gs under heat stress ranged from 0.26 to 0.85 in the vegetative stage and between 0.06 to 0.73 at the reproductive stage.

It has been determined that additive, additive x additive, and additive x dominance gene effects contributed to the governing of stomal conductance; however, dominance effects were lower in cotton. At the same time, the broad-sense heritability degree for gs in cotton (*Gossypium barbadense* L.) was estimated at 0.80 and 0.58 in two consecutive years (Peryc et al., 1996). Rahman et al. (2008) showed that both additive and non-additive gene actions were responsible for controlling gs in cotton under heat-stressed field conditions. Moreover, it is indicated that canopy temperature depression in wheat was controlled by both additive and non-additive gene actions (Attri et al., 2021). Yıldırım et al. (2013) exhibited that CTD in wheat at different daytime like late morning, noon, and early afternoon, was controlled by both additive (late morning) and non-additive gene actions, while gs was governed by non-additive gene actions, as well as in the inheritance of SPAD at the heading stage (ZGS55), and early milk stage (ZGS75) was important the additive and non-additive gene actions, respectively. In a half-diallel analysis on wheat, the D genetic parameter (additive genetic effects) was higher from  $H_1$  and  $H_2$

(dominant genetic effects), and the value of  $H_1$  and  $H_2$  were unequal for CTD under heat stress. In addition, the overall dominance effects of heterozygous loci ( $h^2$ ) were positive for CTD, highlighting that dominance variance was important in the inheritance of these traits under heat stress conditions. The F value was positive for CTD; however, this result was not concord with KD/KR value, which was lower than a unit.  $(H_1/D)^{0.5}$  was 0.98 for CTD, showing this characteristic was governed by incomplete dominance. It was detected that the  $H_2/4H_1$  ratio was 0.2, which exhibits the unequal distribution of favourable (u) and unfavourable (v) alleles in dominant loci among parents for the expression of all characteristics. The  $h^2/H_2$  (K) value was 1.33 for CTD, indicating that this characteristic was controlled by roughly one gene group. Besides, narrow-sense heritability for CTD under heat stress was estimated at 0.78 (Ram et al., 2014).

### 3. CONCLUSION

Differences in the findings of this research with the results of previous studies attract attention. Thus, we speculated that depending on various abiotic stresses, such as heat, drought, and salinity stress, the phenological stages at which measurements were made, and field crop species, the inheritance of the physiological characteristics observed could change. Furthermore, it can be highlighted that canopy temperature depression can be used as a reliable selection criterion as of the  $F_3$  generation in which each genotype can sow as the least four rows due to the lower canopy intensity in  $F_1$  and  $F_2$  generations, which CTD is not accurately measured. Consequently, results relating to physiological characteristics in the literature should be approached carefully to plan the next breeding programmes due to the abovementioned concerns.

### ACKNOWLEDGEMENTS

This paper is a part of PhD dissertation completed by Volkan Mehmet ÇINAR.

### AUTHOR CONTRIBUTIONS

The authors contributed equally to this research and have read and agreed to the published version of the paper. Volkan Mehmet ÇINAR: Conceptualization, hybridization, performing the experiment activities, data curation and statistical analysis, literature survey, writing-review & editing the paper. Aydın UNAY: Conceptualization, writing and review the paper, providing critical feedback and supervision.

### FUNDING

This research was funded by the Unit of Scientific Research Project, Aydın Adnan Menderes University (Project No: ZRF-21003). Volkan Mehmet ÇINAR thanks the Higher Education Council of Turkey (YOK) for the 100/2000 PhD scholarship.

### CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

### 4. REFERENCES

- Ahmad, A., Diwan, H., Abrol, Y.P., 2010. Global climate change, stress and plant productivity. In: Pareek, A., Sopory, S.K., Bohnert, H.J., Govindjee (Eds.), *Abiotic Stress Adaptation in Plants: Physiological, Molecular and Genome Foundation*. Springer Science+Business Media BV, Dordrecht, pp. 503- 521. [https://doi.org/10.1007/978-90-481-3112-9\\_23](https://doi.org/10.1007/978-90-481-3112-9_23)
- Ali, H. M. W., Saleem, M., Ahsan, M., & Ahmad, R. (2018). Combining ability analysis of physiological traits and grain yield in maize under heat stress. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 55(2). <https://doi.org/10.21162/PAKJAS/18.6657>
- Attri, H., Dey, T., Singh, B., & Kour, A. (2021). Genetic estimation of grain yield and its attributes in three wheat (*Triticum aestivum* L.) crosses using six parameter model. *Journal of Genetics*, 100, 1-9. <https://doi.org/10.1007/s12041-021-01298-y>

- Barnabás, B., Jäger, K., & Fehér, A. (2008). The effect of drought and heat stress on reproductive processes in cereals. *Plant, Cell & Environment*, 31(1), 11-38. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2007.01727.x>
- Bazzer, S. K., & Purcell, L. C. (2020). Identification of quantitative trait loci associated with canopy temperature in soybean. *Scientific Reports*, 10(1), 1-11. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74614-8>
- Bitá, C. E., & Gerats, T. (2013). Plant tolerance to high temperature in a changing environment: scientific fundamentals and production of heat stress-tolerant crops. *Frontiers in Plant Science*, 4, 273. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00273>
- Crumpacker, D., & Allard, R. (1962). A diallel cross analysis of heading date in wheat. *Hilgardia*, 32(6), 275-318. <https://doi.org/10.3733/hilg.v32n06p275>
- Djanaguiraman, M., Prasad, P. V., Boyle, D. L., Schapaugh, W. T. (2013). Soybean pollen anatomy, viability and pod set under high temperature stress. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 199(3), 171-177. Doi: 10.1111/jac.12005
- Ergo, V. V., Lascano, R., Vega, C. R., Parola, R., & Carrera, C. S. (2018). Heat and water stressed field-grown soybean: A multivariate study on the relationship between physiological-biochemical traits and yield. *Environmental and Experimental Botany*, 148, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.12.023>
- FAO. (2023). The Statistics of Agricultural Production. url: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> [Date of Access: 10.02.2023]
- Griffing, B. (1956). Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Australian Journal of Biological Sciences*, 9(4), 463-493. <https://doi.org/10.1071/BI9560463>
- Hartman, G. L., West, E. D., & Herman, T. K. (2011). Crops that feed the World 2. Soybean—worldwide production, use, and constraints caused by pathogens and pests. *Food Security*, 3, 5-17. <https://doi.org/10.1007/s12571-010-0108-x>
- Hayman, B. I. (1954a). The theory and analysis of diallel crosses. *Genetics*, 39, 789-809. <https://doi.org/10.1093/genetics/39.6.789>
- Hayman, B. I. (1954b). The analysis of variance of diallel tables. *Biometrics*, 10(2), 235-244. <https://doi.org/10.2307/3001877>
- Hedhly, A., Hormaza, J. I., & Herrero, M. (2009). Global warming and sexual plant reproduction. *Trends in Plant Science*, 14(1), 30-36. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.11.001>
- Hossain, M. M., Azad, M. A. K., Alam, M. S., & Eaton, T. E. J. (2021). Estimation of variability, heritability and genetic advance for phenological, physiological and yield contributing attributes in wheat genotypes under heat stress condition. *American Journal of Plant Sciences*, 12(04), 586. <https://doi.org/10.4236/ajps.2021.124039>
- IPCC. (2014). *Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Core Writing Team, R.K. Pachauri and L.A. Meyer (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, 151 pp. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324>
- IPCC. (2021). *Summary for Policymakers. In: Climate Change 2021: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Masson-Delmotte, V., P. Zhai, A. Pirani, S.L. Connors, C. Péan, S. Berger, N. Caud, Y. Chen, L. Goldfarb, M.I. Gomis, M. Huang, K. Leitzell, E. Lonnoy, J.B.R. Matthews, T.K. Maycock, T. Waterfield, O. Yelekçi, R. Yu, and B. Zhou (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, pp. 3–32. <https://doi.org/10.1017/9781009157896.001>
- Jinks, J. L. & Hayman, B. I. (1953). The analysis of diallel cross. *Maize Genetics Cooperation Newsletter*, 27(1), 48-54.



- Jinks, J. L. (1954). The analysis of continuous variation in a diallel cross of *Nicotiana rustica* varieties. *Genetics*, 39(6), 767-788. <https://doi.org/10.1093/genetics/39.6.767>
- Jones, R. M. (1965). Analysis of variance of the half diallel table. *Heredity*, 20(1), 117-121. <https://doi.org/10.1038/hdy.1965.12>
- Kamara, M. M., Ibrahim, K. M., Mansour, E., Kheir, A. M., Germoush, M. O., Abd El-Moneim, D., ... & Rehan, M. (2021). Combining ability and gene action controlling grain yield and its related traits in bread wheat under heat stress and normal conditions. *Agronomy*, 11(8), 1450. <https://doi.org/10.3390/agronomy11081450>
- Kamara, M. M., Rehan, M., Mohamed, A. M., El Mantawy, R. F., Kheir, A. M., Abd El-Moneim, D., ... & Mansour, E. (2022). Genetic potential and inheritance patterns of physiological, agronomic and quality traits in bread wheat under normal and water deficit conditions. *Plants*, 11(7), 952. <https://doi.org/10.3390/plants11070952>
- Karyawati, A. S., Sitompul, S. M. ve Basuki, N. (2015). Combining ability analysis for physiological characters of soybean (*Glycine max* L. Merrill). *International Journal of Plant Research*, 5(5), 113-121. <https://doi.org/10.5923/j.plant.20150505.04>
- Kucharik, C. J., & Serbin, S. P. (2008). Impacts of recent climate change on Wisconsin corn and soybean yield trends. *Environmental Research Letters*, 3(3), 034003. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/3/3/034003>
- Mason, R. E., Hays, D. B., Mondal, S., Ibrahim, A. M., & Basnet, B. R. (2013). QTL for yield, yield components and canopy temperature depression in wheat under late sown field conditions. *Euphytica*, 194, 243-259. <https://doi.org/10.1007/s10681-013-0951-x>
- Mather, K., & Jinks, J. L. (1971). *Biometrical Genetics*. Second Edition Chapman and Hall Ltd., London. 463 p.
- Mendiburu F., & de Mendiburu, M. F. (2019). Package ‘agricolae’. R Package, Version, 1, 3. Available from: <https://cran.r-project.org/web/packages/agricolae/agricolae.pdf>
- Molino, J. (2011). *Estrés térmico por alta temperatura en soja (Glycine max (L.) Merr.): análisis de la dinámica de producción y fijación de vainas y su efecto sobre la determinación del rendimiento*. Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía, Buenos Aires, Argentina, Master Thesis, 61 p.
- Mwanza, C., Mataa, M., & Tembo, L. (2020). Nature of inheritance to heat stress and selection of inherent genotypes in tropical maize. *Asian Journal of Research in Crop Science*, 5(1), 40-47. <https://doi.org/10.9734/AJRCS/2020/v5i130088>
- Nilsen, E. T., & Orcutt, D. M. (1996). *Physiology of plants under stress. Abiotic factors*. John Wiley and Sons. 689 p.
- Ozcan, K. (1999). *Development of statistical programme for population genetics studies*. PhD, Ege University, Izmir, Turkey (in Turkish with English abstract).
- Percy, R. G., Lu, Z., Radin, J. W., Turcotte, E. L., & Zeiger, E. (1996). Inheritance of stomatal conductance in cotton (*Gossypium barbadense*). *Physiologia Plantarum*, 96(3), 389-394. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1996.tb00449.x>
- Puteh, A. B., ThuZar, M., Mondal, M. M. A., Abdullah, A. P. B., Halim, M. R. A. (2013). Soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] seed yield response to high temperature stress during reproductive growth stages. *Australian Journal of Crop Science*, 7(10), 1472-1479. Available from: <https://search.informit.org/Doi/10.3316/informit.618691733672149>
- Rahman, H. U. (2005). Genetic analysis of stomatal conductance in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) under contrasting temperature regimes. *The Journal of Agricultural Science*, 143(2-3), 161-168. <https://doi.org/10.1017/S0021859605005186>

- Rahman, H., Murtaza, N., Shah, K., Qayyum, A., Ullah, I., & Malik, W. (2008). Genetic variation for stomatal conductance in upland cotton as influenced by heat-stressed and non-stressed growing regimes. *Acta Agronomica Hungarica*, 56(1), 11-19. <https://doi.org/10.1556/AAgr.56.2008.1.2>
- Ram, M., Singh, R. M., & Agrawal, R. K. (2014). Genetic analysis for terminal heat stress in bread Wheat (*Triticum aestivum* L. em. thell). *The Bioscan*, 9(2), 771-776.
- Ramya, K. T., Bellundagi, A., Rai, N., Jain, N., Singh, P. K., Arora, A., ... & Prabhu, K. V. (2021). Gene action governing the inheritance of stomatal conductance in four wheat crosses under high temperature stress condition. *Frontiers in Plant Science*, 12, 658443. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.658443>
- Sakata, T., & Higashitani, A. (2008). Male sterility accompanied with abnormal anther development in plants—genes and environmental stresses with special reference to high temperature injury. *International Journal of Plant Developmental Biology*, 2(4), 42-51.
- Schittenhelm, S., Langkamp-Wedde, T., Kraft, M., Kottmann, L., & Matschiner, K. (2020). Effect of two-week heat stress during grain filling on stem reserves, senescence, and grain yield of European winter wheat cultivars. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 206(6), 722-733. <https://doi.org/10.1111/jac.12410>
- Schlenker, W. ve Roberts, M. J. (2009). Nonlinear temperature effects indicate severe damages to US crop yields under climate change. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(37), 15594-15598. Doi: 10.1073/pnas.0906865106
- Sharkey, T. D., & Zhang, R. (2010). High temperature effects on electron and proton circuits of photosynthesis. *Journal of Integrative Plant Biology*, 52(8), 712-722. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2010.00975.x>
- Shrestha, S. L., Garland-Campbell, K. A., Steber, C. M., Pan, W. L., & Hulbert, S. H. (2023). Association of canopy temperature with agronomic traits in spring wheat inbred populations. *Euphytica*, 219(1), 7. <https://doi.org/10.1007/s10681-022-03135-4>
- Steel, R. G. D., & Torrie, J. H. (1980). *Principles and procedures of statistics, a biometrical approach* (No. Ed. 2). McGraw-Hill Kogakusha Ltd., Tokyo, Japan, 663 pp.
- Stone, P., 2001. The effects of heat stress on cereal yield and quality. In: Basra, A.S. (Ed.), *Crop Responses and Adaptation to Temperature Stress*. Food Products Press, Binghamton, NY, pp. 243–291.
- Todorov, D. T., Karanov, E. N., Smith, A. R., & Hall, M. A. (2003). Chlorophyllase activity and chlorophyll content in wild type and eti 5 mutant of *Arabidopsis thaliana* subjected to low and high temperatures. *Biologia Plantarum*, 46, 633-636. <https://doi.org/10.1023/A:1024896418839>
- TTSM, (2019). Variety registration and seed certification official reports of field crops obtained from tests carried out in multi-locations during 2014 – 2019. Republic of Türkiye Ministry of Agriculture and Forestry Variety Registration and Seed Certification Center, Ankara. Available from: <https://www.tarimorman.gov.tr/BUGEM/TTSM/Menu/114/Yayinlar>
- Wise, R. R., Olson, A. J., Schrader, S. M., & Sharkey, T. D. (2004). Electron transport is the functional limitation of photosynthesis in field-grown Pima cotton plants at high temperature. *Plant, Cell & Environment*, 27(6), 717-724. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2004.01171.x>
- Yıldırım, M., Koç, M., Akıncı, C., & Barutçular, C. (2013). Variations in morphological and physiological traits of bread wheat diallel crosses under timely and late sowing conditions. *Field Crops Research*, 140, 9-17. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2012.10.001>
- Zinn, K. E., Tunc-Ozdemir, M., & Harper, J. F. (2010). Temperature stress and plant sexual reproduction: uncovering the weakest links. *Journal of Experimental Botany*, 61(7), 1959-1968. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq053>

**THE EFFECT OF CLINOPTILOLITE ADDED TO THE EXTENDER IN COOLED DOG  
SPERM ON SEMEN QUALITY**

**SOĞUTULMUŞ KÖPEK SPERMASINDA SULANDIRICIYA EKLENEN  
KLİNOPTİLOLİTİN SPERMA KALİTESİNE ETKİSİ**

***Nurdan COŞKUN ÇETİN***

*Hatay Mustafa Kemal University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Fertilization and Artificial Insemination, Hatay-Turkey.*

*ORCID ID: 0000-0002-7120-8146*

***Fikret KARACA***

*Hatay Mustafa Kemal University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Fertilization and Artificial Insemination, Hatay-Turkey.*

*ORCID ID: 0000-0002-1765-4655*

**ABSTRACT**

In the study, the effect of clinoptilolite addition at different rates (5%, 3%, and 1%) to Tris-citric acid-based semen extender on semen quality after dilution, equilibration, and cooling to +5 °C was investigated. Sperm were collected by massage from 4 dogs aged 2-5 years without any fertility problems and diluted at a 1:3 (v/v) ratio. The temperature of the diluted semen was lowered to 5°C within 45 minutes, and it was equilibrated for 2 hours. In the evaluation of the durability of the cooled semen, it was kept in the refrigerator until motility ceased. In spermatological evaluation, motility, dead-live and abnormal sperm ratios, membrane integrity, and storage times were recorded. In the study, it was determined that the addition of clinoptilolite at levels of 1% and 3% had a positive effect on motility, viability, morphology, and membrane integrity after dilution, equilibration, and cooling. Compared to the control group, motility, viability, and membrane integrity were significantly higher in the extender groups with 1% and 3% clinoptilolite added, and the rate of abnormal sperm was found to be lower. Abnormal spermatozoa rates were found to be significantly higher in the 5% clinoptilolite group. It was determined that the addition of clinoptilolite at low and average doses had a positive effect on the storage time after dilution. It was concluded that clinoptilolite added to the semen extender in dogs at 1% and 3% reduced sperm damage and improved sperm quality in chilled semen.

**Keywords:** Clinoptilolite, dog, semen, short-term storage.

**1. INTRODUCTION**

Chilled dog semen should be clinically applied, because it requires no special expensive equipment and maintains high sperm motility over the short term, having high conception rate (Rota et al., 1995; Tsutsui et al., 2003). The increased use of canine chilled semen combined with an increased use of transcervical insemination in breeding programs requires reliable long-term storage conditions to preserve sperm quality. In clinical practice, problems associated with timing of insemination of bitches and shipment of semen sometime warrants more than one collection and shipment. Therefore, management of insemination will be easier with increased longevity of chilled extended semen particularly in cases where more than one insemination is needed. Several extenders have been successfully used to conserve sperm fertilizing capacity (Kasimanickam et al., 2012). The use of chilled dog semen is less expensive method than for frozen semen. The use and transport of chilled semen in dog breeding is becoming increasingly more common. Many extenders for chilled dog semen have been evaluated, and egg-yolk-tris (YET) extenders appear superior (Ponglowhapan et al., 2004).

During the storage damage to the sperm due to physical and biochemical impacts on some components (Khalil et al., 2018). To protect the sperm cells this impacts, some antioxidant substances added

extenders and the composition of extenders have to be optimized for each species (Mohammed et al., 2021).

Zeolites are aluminosilicate minerals, either in natural or synthetic forms (Alberti & Bein, 1996). Zeolites were discovered in 1756 by Baron Axel Fredrick Cronstedt (Mumpton & Fishman, 1977). Each zeolite has uniformly distributed nanopores and morphology irrespective of its particle size. The synthetic loaded forms have also been used as adjuvant and antimicrobial for medicine (Salah et al., 2019; Mohammed et al., 2021). Some forms of zeolites have been used in antifungal, antibacterial, and antidiarrheal (Kraljevic et al., 2018). Previous studies also indicated zeolites have antioxidant properties and used in veterinary medicine (Wu et al., 2013; Mohammed et al., 2021). Zeolites have been extensively used as feed additives in farm animals to positively influence growth and reproductive performance (Papaioannou et al., 2005).

Clinoptilolites (CLP) are aluminum silicate compounds having three-dimensional forms, the most widely used zeolite in veterinary medicine (Pavelic et al., 2001). Zeolite able to adsorb molecules, damaging toxins and participate in catalysis and dehydration-rehydration processes (Mumpton, 1999; Oguz & Kurtoglu, 2000; Schneider et al., 2017). Clinoptilolite is a great source of silicon in the form of orthosilicic acid which protects the body from heavy metals (Martin, 2013). Clinoptilolite also could use intoxication some species (Papaioannou et al., 2005). CPL have been extensively used in farm animals to positively influence growth and reproductive performance (Valpotic et al. 2017) and have no chemical reactions with diets or body fluids (Ivkovic et al., 2004) without harmful effects.

There is no report about the effects of zeolites on spermatological characteristics in dogs. In the study, the effect of clinoptilolite addition at different rates (5%, 3%, and 1%) to Tris-citric acid-based semen extender on semen quality at short time storage was investigated.

## **2. MATERIAL - METHOD**

The study permission was obtained with the decision numbered 15/02/2014-28914 of the Animal Experiments Ethics Committee of Hatay Mustafa Kemal University. In the study 4 dogs without fertility problems aged 2-5 years were used. Turkish Manisa Gordes zeolite, obtained from Rota Mining Corporation (Istanbul, Turkey), was used in the present study. Clinoptilolite was the predominant mineral (95%) present in the natural zeolite used. The semen was taken twice a week, with a total of 10 times, with the massage method, paying attention to the removal of only the semen part consisting of the second fraction. Semen with at least 70% motility and less than 10% dead-live spermatozoa were considered normal and then diluted with semen extenders.

### **Dilution and Cooling Sperm**

Semen was diluted 1:3 (v/v) with Tris-citric acid diluent (240 mM Tris, 63 mM citric acid, 8% (v/v) glycerol, 20% (v/v) egg yolk, and 70 mM fructose). Zeolite was dissolved in distilled water and added to the extender at different rates (5%, 3%, 1%, and 0%). After dilution, the semen samples were cooled to +5 °C for 45 minutes in the refrigerator, equilibrated for 2 hours, and spermatological examinations were performed at this temperature. The storage time was evaluated at 12-hour intervals until motility stopped.

### **Sperm Concentration Assessment**

The Makler counting chamber was evaluated in accordance with the instructions.

### **Motility Assessment**

Motility was evaluated under the phase contrast microscope, 1 drop of semen was taken from the slide on the heating plate, the coverslip was closed, 4-5 areas were evaluated with x40 objective and the value was recorded as %.

### **Determination of Dead-Live and Abnormal Spermatozoon Ratio**

These assessments were evaluated using an eosin-nigrosin stain. It was expressed as % after at least 200 cells were evaluated in the form of staining the heads of dead spermatozoa in red color with an x40 objective by taking a smear from the semen mixed with the dye and counting the live spermatozoa without staining. In the evaluation of abnormal spermatozoa ratio, at least 200 cells were evaluated by

dropping immersion oil at x1000 magnification of the microscope and total abnormality was calculated as %.

### Evaluation of Plasma Membrane Integrity

For the hypoosmotic swelling test, 100 ml distilled water, 1.1 g fructose, 0.55 g sodium citrate solution were adjusted to 100 mOsm/L. 100 µl of 100 mOsm HOS solution at 37°C was taken in a water bath and 10 µl of semen was added to it. After 60 minutes of incubation, the smears prepared were examined under a microscope (x400) and counted at least 200 cells and determined as % by considering the curls and swellings in the tail. (Nur et al., 2005)

### Statistical analysis

The mean values and standard errors of the data obtained in the study were calculated. Statistical analyzes were evaluated with SPSS 23.0 package program. A one-way ANOVA test was used to evaluate the data. Duncan test was used to indicate the importance of the difference between groups as a result of the analysis.

## 3. RESULTS

**Table 1:** Spermatological values determined in extender groups at +5 °C (Mean±Standard Error)

Groups	Motility (%)	Membrane Integrity (%)	Dead Spermatozoa Rates (%)	Abnormal Spermatozoa Rates (%)	Storage time (hour)
<b>Control</b>	75±5.78 <sup>b</sup>	80±3.45 <sup>b</sup>	16±0.99 <sup>b</sup>	10±0.76 <sup>b</sup>	96±12.00 <sup>b</sup>
<b>1% CLP</b>	85±4.97 <sup>a</sup>	87±4.56 <sup>a</sup>	5±1.11 <sup>c</sup>	4±0.99 <sup>c</sup>	120±00.00 <sup>a</sup>
<b>3% CLP</b>	85±4.31 <sup>a</sup>	86±4.87 <sup>a</sup>	6±1.34 <sup>c</sup>	5±1.56 <sup>c</sup>	120±00.00 <sup>a</sup>
<b>5% CLP</b>	65±5.00 <sup>c</sup>	72±5.32 <sup>c</sup>	21±2.13 <sup>a</sup>	15±3.01 <sup>a</sup>	72±12.00 <sup>c</sup>
<b>P</b>	<b>0.004</b>	<b>0.010</b>	<b>0.002</b>	<b>0.003</b>	<b>0.028</b>

p<0.05: The statistical difference is significant.

a,b,c: There is a statistical difference between the values indicated with different letters in the same column.

**Table 2:** Motility values during storage in extender groups at +5 °C (Mean±Standard Error)

Groups	Storage Time (Hours)											
	0	12	24	36	48	60	72	84	96	108	120	132
<b>Control</b>	75±5.78 <sup>b</sup>	70±6.27 <sup>ab</sup>	60±7.65 <sup>a</sup>	45±6.98 <sup>ab</sup>	30±3.32 <sup>b</sup>	20±3.45 <sup>b</sup>	10±2.00 <sup>b</sup>	5±0.76 <sup>b</sup>	0±0.00 <sup>b</sup>	-	-	-
<b>1% CLP</b>	85±4.97 <sup>a</sup>	75±6.60 <sup>a</sup>	60±6.66 <sup>a</sup>	50±4.45 <sup>a</sup>	40±3.45 <sup>ab</sup>	35±5.65 <sup>a</sup>	30±4.03 <sup>a</sup>	20±3.21 <sup>a</sup>	15±2.10 <sup>a</sup>	5±0.15	0±0.00	-
<b>3% CLP</b>	85±4.31 <sup>a</sup>	75±5.47 <sup>a</sup>	60±7.00 <sup>a</sup>	50±4.43 <sup>a</sup>	45±5.43 <sup>a</sup>	40±4.45 <sup>a</sup>	30±4.45 <sup>a</sup>	20±2.96 <sup>a</sup>	10±1.12 <sup>a</sup>	5±0.12	0±0.00	-
<b>5% CLP</b>	65±5.00 <sup>c</sup>	50±7.23 <sup>b</sup>	40±5.90 <sup>b</sup>	30±5.48 <sup>b</sup>	15±2.11 <sup>c</sup>	5±0.78 <sup>c</sup>	0±0.00 <sup>c</sup>	-	-	-	-	-
<b>P</b>	<b>0.011</b>	<b>0.027</b>	<b>0.002</b>	<b>0.035</b>	<b>0.030</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.076</b>	-	-

p>0.05: Statistical difference is not significant.

p<0.05: The statistical difference is significant.

a,b,c: There is a statistical difference between the values indicated with different letters in the same column.

In the evaluation of motility and membrane integrity in diluted and chilled semen, 1% and 3% CLP groups were found to have significantly higher values than the control group. The lowest motility and membrane integrity values were determined in the 5% CLP group (p<0.05) In the evaluation of dead and abnormal sperm ratios, the lowest value was determined in the 1% and 3% CLP groups compared to the control, while the highest rate was found in the 5% CLP group (p<0.05). In terms of storage time, the longest storage times were found in the 1% and 3% CLP groups in the 12-hour evaluation until the motility ended. The 5% CLP group had a lower retention time compared to the control group (p<0.05) (Table 1).

In Table 2, motility values according to hours in chilled semen are indicated. Motility was significantly higher in the 1% and 3% supplementation groups at all times except the 108th hour, compared to the 5% supplemented group ( $p < 0.05$ ).

#### 4. DISCUSSION

Zeolites, mineral rocks of volcanic origin, are chemically hydrated alkali metal aluminosilicates and alkaline earth metals. The biological effects of the natural zeolite, such as adsorption, cation exchange, and catalytic properties. Zeolite is widely applied in industrial, agricultural, commercial and biomedical fields (Dalle Zotte, 2002; Bacakova et al., 2018). Clinoptilolite which is natural zeolite has been shown to exhibit diverse biological activities. Even though antioxidant capacity of zeolite is still not clear, probably that zeolite offers metal ions within its structure for the activation of antioxidant enzymes (Mastinu et al., 2019; Kraljevic Pavelic et al., 2018). Among 140 types of natural zeolites, Clinoptilolite (CPL) is the most widespread. Clinoptilolite is natural minerals has been used in veterinary and human medicine as an immunostimulant, used for the regulate of body pH, against oxidant activities of free radicals, (Ambrozova et al., 2017; Kraljevic et al., 2018; Speranda et al., 2021).

The effects of zeolite on semen quality was little information. El-Hawy et al. (2021) indicated that the addition of 6 % zeolite into the diets of Barki ewes could be an attempt to lessen the harmful effect of drinking salty water and enhance reproduction. Papaioannou et al. (2002) reported the addition of zeolite to diets had a positive effect on performance in sows and litter size.

There is no report about the effects of zeolites on spermatological characteristics in dogs. Morsy (2018) reported that the addition of 2 % or 4 % zeolite to diets could have beneficial effects against saline stress on the physiological performance and semen quality in cocks. This study is inconsistent with Morsy et al. (2018) reported 4% zeolite supplementation had beneficial effects on sperm quality. Our study high dose of CLP had harmful effects on sperm quality. The explanation for these contradictory results is not clear. It may be related to the species and the source of zeolite, the supplemental level.

Mohammed et al. (2021) reported that addition of the semen extender with loaded forms of zeolites improved cryopreserved rabbit sperm quality by enhancing motility, vitality, and plasma membrane integrity. Mohammed et al. (2019) reported that addition of 1% zeolite in rabbit semen extender had a positive effect on motility, livability and membrane integrity in rabbits during cryopreservation. A report by Taş et al. (2007) indicated that the negative effect of 6% zeolite on spermatozoon morphology in rats and they concluded that high rates of zeolite could affect spermatozoon morphology negatively in male animals and the effects of zeolite on reproduction in farm animals. These findings are in accordance with our study.

#### 5. CONCLUSION

Our results demonstrate that the addition of clinoptilolite at levels of 1% and 3% had a positive effect on motility, viability, morphology, membrane integrity and storage time during short-time storage at 5 °C. Compared to the control group, motility, viability, and membrane integrity were significantly higher in the extender groups with 1% and 3% clinoptilolite-supplemented groups, and the rate of abnormal sperm was found to be lower. In terms of abnormal spermatozoa rate, total abnormality rates were found to be significantly higher in the 5% clinoptilolite group. It was determined that the addition of clinoptilolite at low and average doses had a positive effect on the storage time after dilution. It was concluded that clinoptilolite added to the semen extender in dogs at 1% and 3% reduced sperm damage and improved sperm quality in chilled semen. However, the determination of the direct effect of zeolites on the semen quality of the dogs requires more thorough studies.

#### 6. REFERENCES

- Alberti, G., Bein, T. (1996). *Solid-state Supramolecular Chemistry: Two-And Three- Dimensional Inorganic Networks*, Pergamon.
- Ambrozova, P., Kynicky, J., Urubek, T., Nguyen, V.D. (2017). Synthesis and modification of clinoptilolite. *Molecules*. 22, 1107.
- Bacakova, L., Vandrovцова, M., Kopova, I., & Jirka, I. (2018). Applications of zeolites in biotechnology and medicine—a review. *Biomaterials science*, 6(5), 974-989.

- Dalle Zotte, A. (2002). Perception of rabbit meat quality and major factors influencing the rabbit carcass and meat quality. *Livestock production science*, 75(1), 11-32.
- El-Hawy, A. S., Abdalla, E. B., Gawish, H. A., Madany, E. M., & Zaghloul, H. K. (2021). Effect of Zeolite Addition on Physiological, Immunological, Reproductive and Productive Performance of Barki Ewes Under Water Salinity Stress in South Sinai, Egypt. *Journal of Animal and Poultry Production*, 12(10), 345-351.
- Ivkovic, S., Deutsch, U., Silberbach, A., Walraph, E. and Mannel, M. (2004). Dietary supplementation with the tribomechanically activated zeolite clinoptilolite in immunodeficiency: effects on the immune system. *Adv. Ther.*, 21, 135-47.
- Kasimanickam, V. R., Kasimanickam, R. K., Memon, M. A., & Rogers, H. A. (2012). Effect of extenders on sperm mitochondrial membrane, plasma membrane and sperm kinetics during liquid storage of canine semen at 5 C. *Animal reproduction science*, 136(1-2), 139-145.
- Khalil, W.A., El-Harairy, M.A., Zeidan, A.E.B., Hassan, M.A.E., Mohey-Elsaeed, O. (2018). Evaluation of bull spermatozoa during and after cryopreservation: structural and ultrastructural insights, *Int J Vet Sci Med*, 6, 49-56.
- Kraljevic Pavelic, S., Simovic Medica, J., Gumbarevic, D., Filosevic, A., Przulj, N., Pavelic, K. (2018). Critical review on zeolite clinoptilolite safety and medical applications in vivo, *Front. Pharmacol.*, 9, 1350.
- Martin, K.R. (2013). Silicon: the health benefits of a metalloid. In: Sigel A, Sigel H, Sigel R, editors. *Interrelations between Essential Metal Ions and Human Diseases. Metal Ions in Life Sciences*, 13, 451-73.
- Mastinu, A., Kumar, A., Maccarinelli, G., Bonini, S. A., Premoli, M., Aria, F., Gianoncelli, A., & Memo, M. (2019). Zeolite Clinoptilolite: Therapeutic Virtues of an Ancient Mineral. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(8), 1517.
- Mohammed, A. K., Khalil, W. A., Gabr, S. A., Hammad, M. E., Youssef, H. F., & Mehrez, A. Z. (2019). Impact of Zeolite Addition in Semen Extender on Rabbit Sperm Quality after Cryopreservation. *Journal of Animal and Poultry Production*, 10(10), 317-322.
- Mohammed, A. K., Khalil, W. A., Youssef, H. F., Saadeldin, I. M., Gabr, S. A., Hammad, M. E., & Mehrez, A. Z. (2021). Influence of adding zeolite loaded with different charges to semen extender on sperm quality in rabbits after cryopreservation. *Cryobiology*, 103, 107-115.
- Morsy, A. S. (2018). Effect of zeolite (Clinoptilolite) as a salinity stress alleviator on semen quality and hemato-biochemical parameters of Montazah cocks under South Sinai conditions. *Research Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 10(2), 9-17.
- Mumpton, F. A., & Fishman, P. H. (1977). The application of natural zeolites in animal science and aquaculture. *Journal of Animal Science*, 45(5), 1188-1203.
- Mumpton, F.A., (1999). *La Roca Magica: uses of natural zeolites in agriculture and industry*. P. Natl. Acad. Sci, USA, 96, 3463-3470.
- Nur, Z., Dogan, I., Gunay, U., Soyulu, M.K. (2005). Relationships between sperm membrane integrity and other semen quality characteristics of the semen of saanen goat bucks. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 49(2), 183-187.
- Oğuz, H. & Kurtoğlu, V. (2000). Effects of clinoptilolite on performance of broiler chickens during experimental aflotoxicosis. *Brit. Poultry Sci.*, 41, 512- 517.
- Papaioannou, D. S., Kyriakis, S. C., Papasteriadis, A., Roumbies, N., Yannakopoulos, A., & Alexopoulos, C. (2002). A field study on the effect of in-feed inclusion of a natural zeolite (clinoptilolite) on health status and performance of sows/gilts and their litters. *Research in Veterinary Science*, 72(1), 51-59.

- Papaioannou, D., Katsoulos, P.D., Karatzias, H. (2005). The role of natural and synthetic zeolites as feed additives on the prevention and/or the treatment of certain farm animal diseases: a review. *Micropor Mesopor Mat.*, 84, 161-70.
- Pavelić, K., M. Hadžija, L. Bedrica, J. Pavelić, I. Dikić, M. Katić, M. Kralj, M.H. Bosnar, S. Kapitanović, M. Poljak-Blazi, S. Krizanac, R. Stojković, M. Jurin, B. Subotić & Colić, M. (2001). Natural zeolite clinoptilolite new adjuvant in anticancer therapy. *J. Mol. Med.*, 78, 708- 720.
- Ponglowhapan, S., Essén-Gustavsson, B., & Forsberg, C. L. (2004). Influence of glucose and fructose in the extender during long-term storage of chilled canine semen. *Theriogenology*, 62(8), 1498-1517.
- Rota, A., Ström, B., Linde-Forsberg, C. (1995). Effects of seminal plasma and three extenders on canine semen stored at 4 degrees C. *Theriogenology*, 44: 885–900.
- Salah, Z., Abd El Azeem, E.M., Youssef, H.F., Gamal-Eldeen, A.M., Farrag, A.R., E. El- Meliegy, B., Soliman, M. Elhefnawi, M. (2019). Effect of tumor suppressor MiR-34a loaded on ZSM-5 nanozeolite in hepatocellular carcinoma: in vitro and in vivo approach, *Curr. Gene Ther.*, 19, 342-354.
- Schneider, A.F., Zimmermann O.F., Gewehr, C.E. (2017). Zeolites in poultry and swine production. *Ciência Rural*, Santa Maria, 47, 1-8.
- Šperanda, T., Pavić, V., Lončarić, Z., Šperanda, M., Popović, M., Gantner, V., & Đidara, M. (2021). Selenium and Natural Zeolite Clinoptilolite Supplementation Increases Antioxidative Status and Immune Response in Growing Pigs. *Frontiers in Veterinary Science*, 842.
- Taş, M., Demirel, R., Şentürk, D., Doğan, K., Bacinoğlu, S., Cirit, Ü., & Ketani, M. (2007). Effects of dietary natural zeolite on the testicular weight, body weight and spermatological characteristics in rats. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 33(3), 33-42.
- Tsutsui, T., Tezuka, T., Mikasa, Y., Sugisawa, H., Kirihara, N., Hori, T., Kawakami, E. (2003). Artificial insemination with canine semen stored at a low temperature. *J. Vet. Med. Sci.*, 65: 307–312.
- Valpotić, H., Gračner, D., Turk, R., Đuričić, D., Vince, S., Folnožić, I., ... & Samardžija, M. (2017). Zeolite clinoptilolite nanoporous feed additive for animals of veterinary importance: potentials and limitations. *Periodicum biologorum*, 119(3), 159-172.
- Wu, Y., Wu, Q., Zhou, Y., Ahmad, H., Wang, T. (2013). Effects of clinoptilolite on growth performance and antioxidant status in broilers, *Biol. Trace Elem. Res.*, 155, 228-235.



SULTAN PAPAĞANINDAN *MUCOR PİRİFORMİS*, *RHİZOPUS STOLONİFER* VE  
*FUSARIUM* SPP. İZOLASYONU  
ISOLATION OF *MUCOR PİRİFORMİS*, *RHİZOPUS STOLONİFER* AND *FUSARIUM* SPP.  
FROM COCKATIEL

**Banur BOYNUKARA<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Prof. Dr., Namık Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tekirdağ,  
TÜRKİYE.

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2967-213X>

**Timur GÜLHAN<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>Prof. Dr., Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Samsun,  
TÜRKİYE

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4798-1427>

**Senem ÖZTÜRK KÖSE<sup>3</sup>**

<sup>3</sup>Doktora Öğrencisi, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Aydın,  
TÜRKİYE

<sup>3</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5656-6711>

**Ahsen Kubilay ALBAYRAK<sup>3</sup>**

<sup>4</sup>Lisans 5. Sınıf İntörn Öğrencisi, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE

<sup>4</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8294-9919>

## ÖZET

Evcil kuşlarda, sindirim sistemini etkileyen ve disfonksiyonlara yol açabilen kronik seyirli mikotikenfeksiyonlar önemlidir. Taşıyıcı kanatlılar duyarlı bireylere patojen mantar türlerini bulaştırırlar ve çevresel kontaminasyonlara sebep olurlar. Bulaşma; çevresel kontaminasyonun başlıca kaynağı olan hasta/taşıyıcı hayvanların tüy/dışkı gibi materyalleri ile direkt temas veya toz halindeki biyoaerosollerininhalasyonu ile meydana gelmektedir. Bu çalışmada hızlı kilo kaybı, iştahsızlık, ilgisizlik ve ishal şikayetleri olan 6.5 yaşındaki bir sultan papağanına (*Nymphicushollandicus*) ait dışkı örneği mikolojik olarak direkt kültür tekniği ile incelendi. Bu amaçla taze dışkı örneği aseptik şartlarda fizyolojik tuzlu su ile homojen hale getirilip seri dilüsyonlar yapılarak dichloranrosebengalchloramphenicolagar (DRBC) ve kanlı agarbesiyerlerine ekim yapıldı. Uygun koşullarda inkübasyonu takiben üreyen kolonilerin; koloni büyüklüğü ve rengi, yüzey görünümü, pigment oluşumu makroskobik olarak değerlendirildi. Şüpheli koloniler malt ekstractagar (MEA) besi yerine üç nokta ekim yapılarak saflaştırıldı. Saf kolonilerden laktofenol pamuk mavisi (LFPM) ile boyanarak hazırlanan preparatlar, konidiaforun uzunluğu, vesikülün şekli ve genişliği, konidianın şekli gibi özellikler açısından mikroskobik olarak incelendi. İzolatlar, makroskobik ve mikroskobik incelemeler sonucunda *Mucorpiriformis* Scop., *Rhizopusstolonifer* (Ehrenb.) Vuill. ve *Fusarium* spp. olarak tanımlandı.

Sonuç olarak; kanatlı hayvan yetiştiriciliğinde mikotikenfeksiyonlar, ekonomik kayıpların yanı sıra, patojen türlere ait sporların çevresel kontaminasyonu ile insanlara bulaşma riski ve ilaç dirençliliği açısından önemlidir. Enfeksiyonların epidemiyolojisi detaylı olarak ortaya konulmalı, patogeneze, erken tanı yöntemleri ve antifungal tedavi programları ayrıntılı biçimde yapılmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Sultan papağanı, Dışkı, *Mucorpiriformis*, *Rhizopusstolonifer*, *Fusarium*spp.

## ABSTRACT

Chronic mycotic infections, which affect the gastrointestinal system and cause dysfunctions in the digestive system, are important in domestic birds. Carrier birds infect susceptible individuals with pathogenic fungal species and cause environmental contamination. Contamination occurs by direct contact with materials such as feathers/feces of sick/carrier animals, which are the main sources of environmental contamination, or by inhalation of powdered bioaerosols. In this study, a stool sample of a 6.5-year-old cockatiel (*Nymphicus hollandicus*) with rapid weight loss, loss of appetite, apathy and diarrhea was examined mycologically by direct culture technique. For this purpose, fresh stool samples were homogenized with physiological saline under aseptic conditions and serial dilutions were made and inoculated on dichloran rose bengal chloramphenicol agar (DRBC) and blood agar media. Mold colonies that reproduce following incubation under appropriate conditions; colony size and color, surface appearance, pigment formation were evaluated macroscopically. Suspicious colonies were purified by three-spot cultivation on malt extract agar (MEA) medium. Preparations with lactophenol cotton blue (LFPM) were prepared from pure colonies, and microscopic examination was performed in terms of features such as the length of the conidiophore, the shape and width of the vesicle, and the shape of the conidia. Macroscopic and microscopic examination of the three colonies revealed *Mucor piriformis* Scop., *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) Vuill. and *Fusarium* spp.

In conclusion, in poultry farming, fungal infections are important in terms of environmental contamination of spores of pathogenic species, the risk of transmission to humans and drug resistance, as well as the significant economic losses they cause. Epidemiology of infections should be revealed in detail, pathogenesis, early diagnosis methods and antifungal treatment programs should be investigated in detail.

**Key words:** Cockatiel (*Nymphicus hollandicus*), Feces, *Mucor piriformis*, *Rhizopus stolonifer*, *Fusarium* spp.

## GİRİŞ

Evcil ve yabani kanatlılar, hastalık oluşturabilen çok sayıda mikotik etkenin taşıyıcısıdır ve duyarlı bireylere bulaştırırlar (Cafarchia ve ark., 2006). Kanatlı hayvanlardan bulaşan ve bioaerosol olarak tanımlanan mikroorganizmaların yüksek konsantrasyonları, duyarlı bireylerde başta alerji ve toksikasyon olmak üzere ciddi hastalıklara neden olabilmektedir (Núñez ve ark., 2016). Yapılan çalışmalarda, klinik olarak sağlıklı görünen ithal pet egzotik kanatlı türlerinde *Mucor piriformis*, *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Fusarium* spp. *Rhizopus* spp. gibi zoonoz etkenlerin izole edildiği bildirilmiştir (Boynukara ve ark., 2019; Gülhan ve ark., 2019). Bu hayvanlar, ölü veya canlı buldukları ortamlarda, hava, su ve toprakta çevresel kontaminasyonlara sebep olmaktadır (Miljkovic ve ark., 2011).

*Rhizopus* cinsi türlerin insan ve hayvanlarda enfeksiyon ve toksikasyonlara neden olduğu bilinmektedir. Bu türlerin kanatlı yemlerini kontamine etmesi sonucu hayvanlarda lokal enfeksiyonlar ve mikotoksikasyonlar oluşmaktadır (Madadi ve ark., 2014).

*Fusarium* türleri toprak ve bitkiler üzerinde yaygın olarak bulunurlar. Çoğu zararsız saprofitik karakterde olup, toprak mikrobiyotasının doğal bir parçasını oluşturmaktadır. Ancak bazı türler, tahıl ürünleri ile besin zincirine karıştığında insan ve hayvan sağlığını tehdit edecek mikotoksinler (fumonisinler ve trikotesenler gibi) üretebilmekte ve bu nedenle bitki ve hayvanların önemli patojenleri arasında gösterilmektedirler (Galosi ve ark., 2022).

*Mucor* türleri, diğer türlerinden farklı olarak toprakta saprotrof yaşayan, organik ve ölü bitki materyallerini çürüten ve çok çeşitli omurgalılarda hastalığa neden olabilen mantarlardır (Hoffmann ve ark., 2013). Pek çok fakültatif patojende olduğu gibi *Mucor* türleri de immun sistemin baskılandığı veya beslenme yetersizliklerine bağlı durumlarda enfeksiyonlara neden olabilmektedir (Seyedmousavive ark., 2018). Kanatlılarda solunum ve sindirim sistemi ile ilgili hastalık vakalarından *Mucor* türlerinin izole edildiği bildirilmektedir (Muir ve Raidal 2012; Schmitz ve ark., 2018).

Bu çalışma, hızlı kilo kaybı, iştahsızlık, ilgisizlik ve ishal şikayetleri olan 6.5 yaşındaki bir sultan papağanına (*Nymphicus hollandicus*) ait dışkı örneğinin mikolojik yönden incelenmesi amacıyla yapıldı.

## MATERYAL ve YÖNTEM

### Materyal

Çalışmada; bir süredir sakinlik, ötmesinde azalma, oyuna ilgisizlik, dışkısının ekşimsi ve kötü kokması ve hızlı kilo kaybı (120 gramdan 95 grama düşme) şikayetleri olan gri vücutlu, sarı/beyaz kanat uçlu, yanaklarında tipik kırmızı ve kulaklarının çevresinde sarı tonlarında renkleri bulunan sultan papağanına (Şekil 1) ait taze dışkı örneği (Şekil 2) materyal olarak kullanıldı.



Şekil 1. Dışkı örneğinin alındığı Eevee isimli sultan papağanı (*Nymphicus hollandicus*)



Şekil 2. Sultan papağanına ait dışkı örneği

## Yöntem

Dışkı örneğinden mikolojik izolasyon amacıyla standart direkt kültür tekniği kullanıldı. Bu amaçla, taze dışkı örneği aseptik şartlarda fizyolojik tuzlu su ile homojen hale getirilip seri dilüsyonlar yapılarak dichloranrosebengalchloramphenicolagar (DRBC) ve kanlı agarbesiyerlerine ekildi. Ekim yapılan petri kutuları 25 °C’de aerobik koşullarda 4 gün süreyle inkübe edildi. İnkübasyon sonrası petriler incelenerek üreyen etkenlerin makroskobik morfolojik özellikler kaydedildi. Petrilerde gelişen farklı kolonileri saflaştırmak amacıyla her bir koloniden malt ekstractagar (MEA)’a üç nokta ekimi yapılarak 25 °C’de 4 gün inkübasyona bırakıldı. Farklı morfolojik özellikte olan koloniler tekrar yatık MEA’ a ekimleri yapılarak stok kültürleri hazırlandı. Şüpheli kolonilerin koloni büyüklüğü ve rengi, yüzey görünümü, pigment oluşumu makroskobik olarak değerlendirildi. Kolonilerden laktofenol pamuk mavisi (LFPM) ile boyanarak hazırlanan preparatlar, mikroskopta konidiaforun uzunluğu, spor çapı, kolumella, sporangioform şekli ve rengi, konidyanın şekli gibi özellikler açısından incelendi ve tanımlandı (König ve ark., 2016; Pitt ve Hocking, 2022).

## BULGULAR

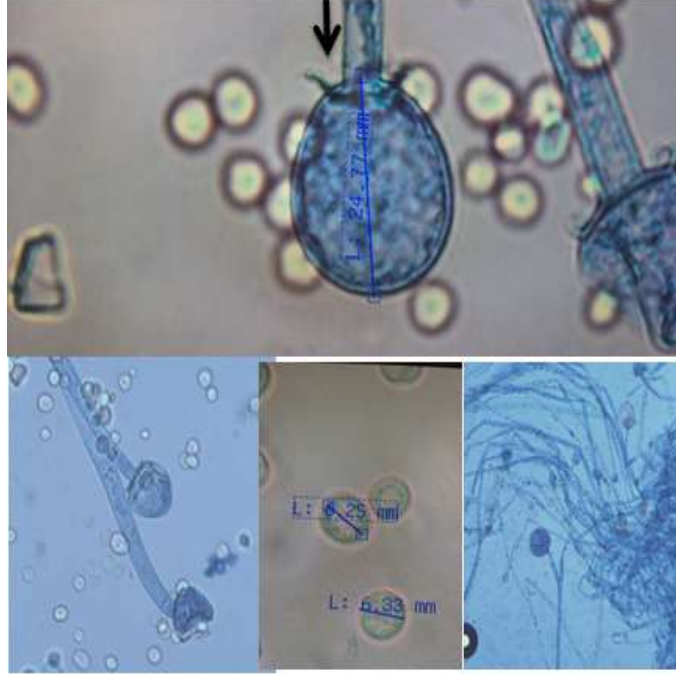
İncelenen dışkı örneğinde morfolojik olarak 3 farklı fungus türü tanımlandı.

### 1. *Mucor piriformis* Scop.(taze dışkıdan)

Malt ekstractagarbesiyerinde 25 °C’de 4 günlük inkübasyon sonrası gelişen **koloniler incelendi, koloni renginin kahverengi ve koloni çapının 40 mm olduğu gözlemlendi (Şekil 3)**. Mikroskobik incelemede ise sporçapının 6-7 mm, kolumella’nın 24x21 mm olduğu belirlendi(Şekil 4).



Şekil 3.*Mucor piriformis* Scop. Kolonisi (MEA)



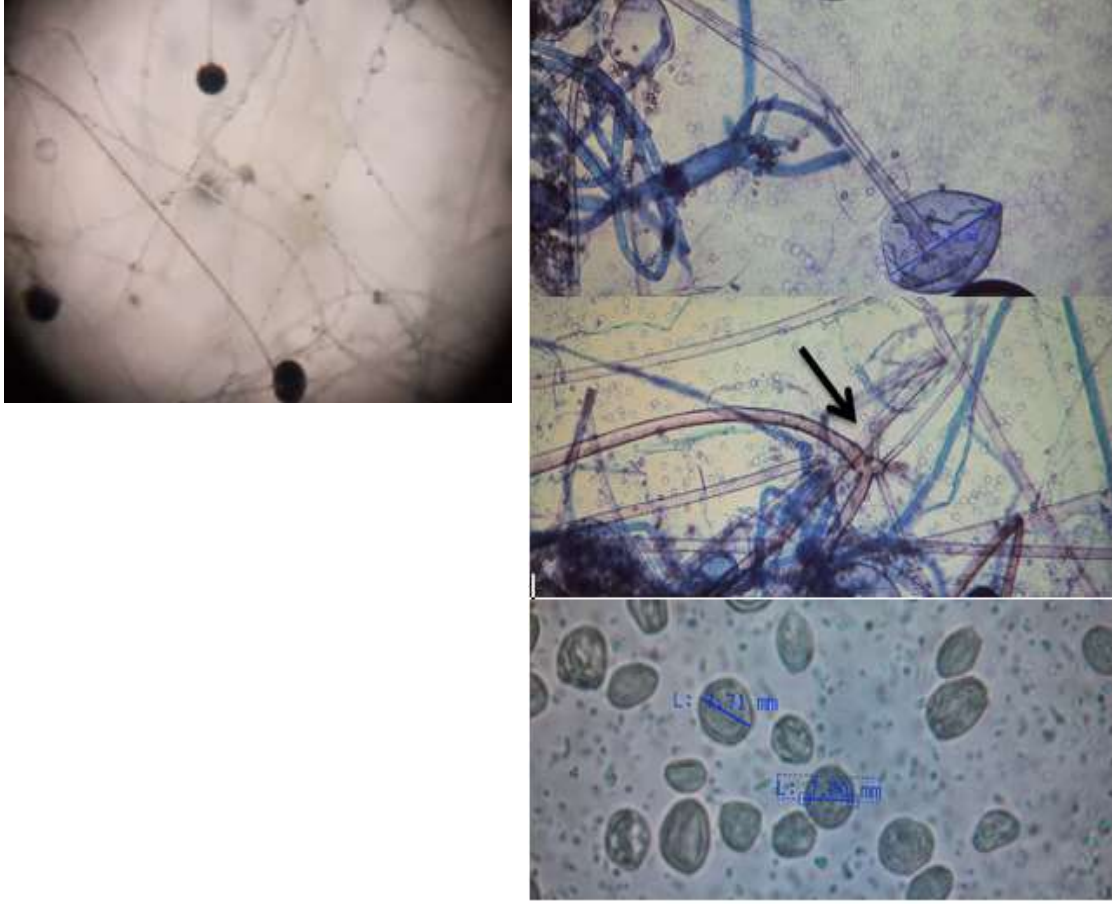
Şekil 4. *Mucor piriformis* Scop. spor ve kolumella (LFPM boyama, 400x)

## 2. *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) Vuill. (taze dışkıdan)

Malt extract agar besiyerinde 25 °C’de 4 günlük inkübasyondan sonra petride gelişen koloniler incelendi, kolonilerin hızla büyüdüleri ve sporlanma ile agar yüzeyini önce beyaz, sonra olgunlaşma ile birlikte siyah bir renkle kapladıkları ve bazen üniform olarak agar yüzeyinde dağıldıkları bazen de agar çevresinde yoğunlaşmış oldukları gözlemlendi (Şekil 5). Mikroskopik incelemede ise spor çapının 7 µm, açık kahverengi, kolumella’nın genellikle küresel şemsiye formunda, rizoit kümelerinden 3 ila 5’li gruplar halinde doğan sporangiyoforların duvarlarının ise kahverenginde olduğu tespit edildi (Şekil 6 ve 7)



Şekil 5. *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) Kolonisi (MEA)



Şekil 6 ve 7. *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) şemsiye, rizoit ve spor yapısı (LFPM Boyama 400x)

### 3. *Fusarium* spp. (Kanlı agar-taze dışkı)

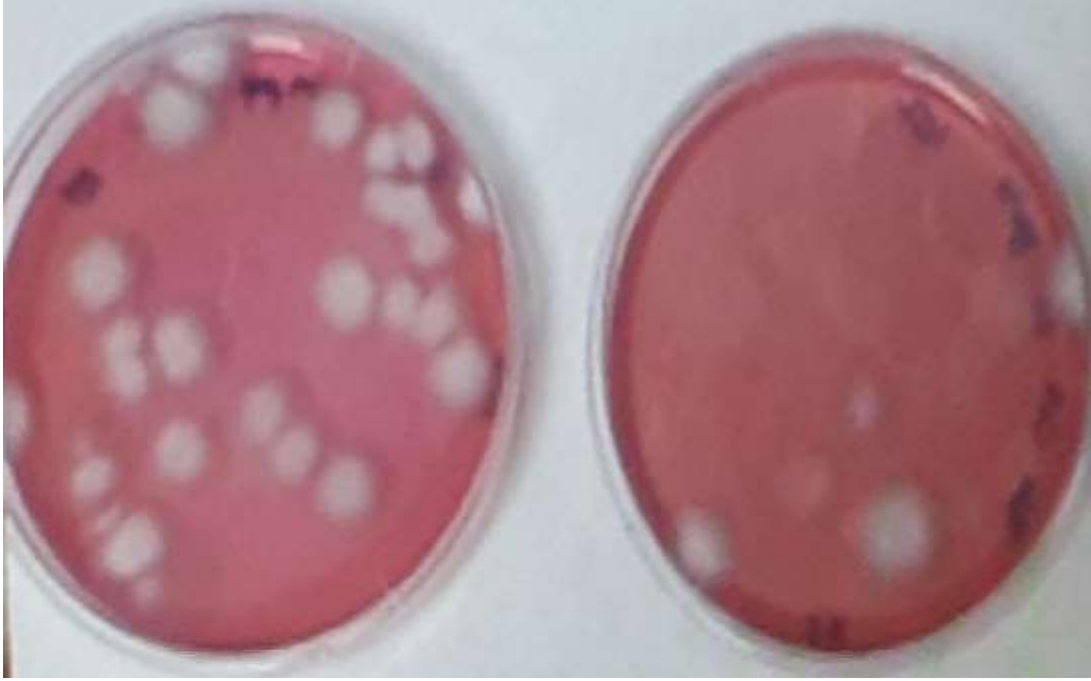
Malt ekstractagarbesiyerinde 25 °C’de 4 günlük inkübasyondan sonra petride gelişen koloniler incelendi. Kolonilerin beyaz ve pamuksu, koloni çapının 40 mm, olduğu kolonilerin agar yüzeyini tamamen kaplamadıkları tespit edildi(Şekil 8). Kanlı agarda aynı şartlarda üreyen kolonilerin beyaz renkte, pamuksu, koloni çapının 40 mm olduğu, kolonilerin petri yüzeyini kaplamadığı belirlendi (Şekil 9 ve 10). Mikroskopik incelemede ise makrokonidiaların 12-13 mm, mikrokonidialar 3-5 mm çapında oldukları saptandı. Makrokonidialarda septumlar gözlemlendi ancak kesin bir sayı verilemedi (Şekil 10 ve 11).



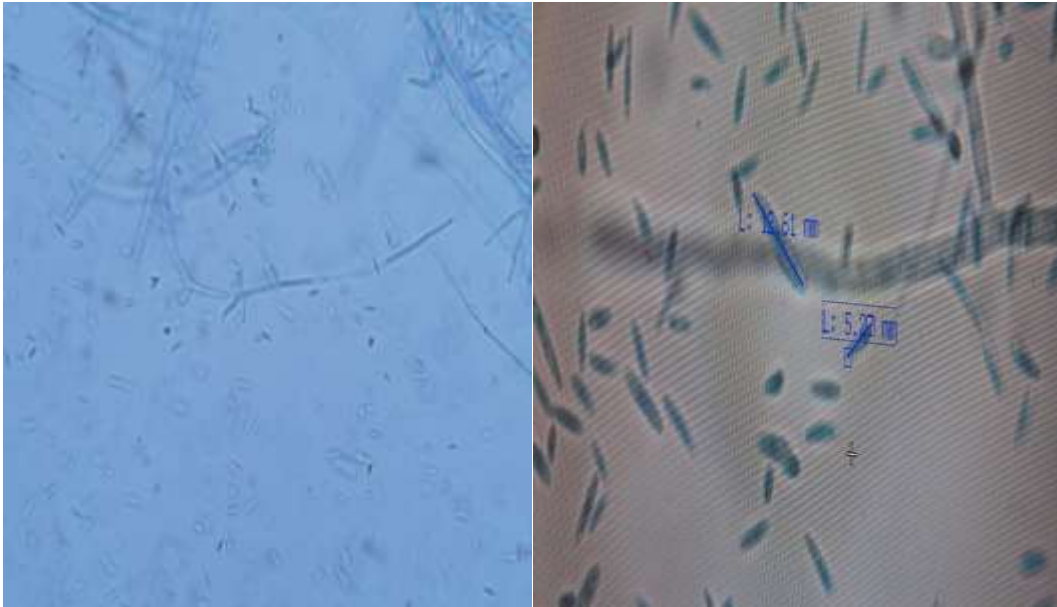
Şekil 8. *Fusarium* spp. Kolonisi (MEA)



Şekil 9. *Fusarium* spp. Kolonisi (Kanlı agar)



Şekil 10. *Fusarium* spp. Kolonisi (Kanlı agar, seri dilüsyon)



Şekil 11 ve 12. *Fusarium* spp. Makro ve Mikrokonidialar (LFPM Boyama, 400x)

## SONUÇ

Evcil ve yabani kuşlar zoonoz karakterdeki mantar türlerini taşıyıcı ve duyarlı bireylere bulaştırırlar (Cafarchia ve ark., 2006). Kanatlı hayvanlardan, duyarlı bireylere patojen türlerin bulaştırılmasında çevresel kontaminasyon son derece önemlidir. Çevresel kontaminasyonun başlıca kaynağı olan hasta/taşıyıcı hayvanların tüy/dışkı gibi materyalleri ile direkt temas veya toz halindeki biyoaerosollerinin inhalasyonu ile bulaşma meydana gelmektedir (Schmitz ve ark., 2018). Patojen mantar türleri kene gibi vektörler aracılığı ile mekanik olarak da taşınabilmektedir (Yoder ve ark., 2008).

Kanatlı hayvanlarda tedavi amacıyla kullanılan antifungal preparatların farmakodinamikleri ve farmakokinetiği ile ilgili bilginin sınırlı olması ve farklı mantar türleri arasında kazanılmış direnç olgusunun giderek artması nedeniyle optimal bir tedavi programının geliştirilmesi zordur (Elad, 2018).



Bu nedenle sürü veya bireysel tedavi, profilaksi ve /veya her ikisi çoğu zaman etkili ve başarılı bir sonuç vermemektedir (Beernaert ve ark., 2010).

Bu çalışmada; kilo kaybı, iştahsızlık, ilgisizlik ve dışkıda ekşimsi kötü koku şikayetleri olan 6.5 yaşındaki bir sultan papağanın (*Nymphicushollandicus*) dışkı örneği mikolojik yönden incelendi. Dışkı örneğinden *Mucor piriformis* Scop., *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) Vuill. Ve *Fusarium* spp. izolasyonu ve identifikasyonun fenotipik olarak gerçekleştirildi. Fenotipik olarak tanımlanan izolatların genotipik olarak da doğrulanması ve moleküler olarak karakterize edilmesine karar verildi.

Hasta hayvana tedavi amacıyla uygun dozda oral yolla İtrakonazol uygulaması başlatıldı. Ancak, hastanın strese girmesi ve panik olması nedeniyle ilaç uygulamasına devam edilemedi. Bakım ve beslenme koşullarının optimize edilmesi amacıyla, diyetinde var olan meyve ve sebzelerin verilme sıklığı artırıldı, içme suyuna günlük vitamin takviyesi yapıldı ve kafes koşulları iyileştirildi. Vitamin takviyesi ve besin değişiminden 4 gün sonra hayvanın ötme sıklığının, 7 gün sonra oyun isteğinin normale döndüğü, haftada bir tartılan papağanın destekler sonrası 2. haftada 109 grama, 4. haftada 115 grama ulaştığı görüldü. Papağanın genel tüy yapısında, hastalığının başından itibaren bir değişim gözlenmedi. Sonuç olarak papağan tamamen iyileşerek sağlığına kavuştu.

#### KAYNAKÇA

Beernaert LA, Pasmans F, Van Waeyenberghe L, Haesebrouck F, Martel A. *Aspergillus* infections in birds: A review. *Avian Pathol*, 39, 325-331, 2010.

Boynukara B, Gülhan T, Kurç MA. Komplike Mantar Enfeksiyonu: Muhabbet Kuşu. *Doğanın Sesi Dergisi*, 2(4), 24-32, 2019.

Cafarchia C, Camarda A, Romito D, Campolo M, Quaglia NC, Tullio D, Otranto D. Occurrence of yeasts in cloacae of migratory birds. *Mycopathologia*, 161, 229-234, 2006.

Elad D. Therapy of non-dermatophytic mycoses in animals. *J Fungi*, 4 (120), 1-16, 2018.

Galosi L, Falcaro C, Danesi P, Zanardello C, Berardi S, Biagini L, Attili AR, Rossi G. Atypical mycosis in psittacine birds: A retrospective study. *Front Vet Sci*, 9:883276. doi: 10.3389/fvets.2022.883276, 2022.

Gülhan T, Boynukara B, Kurç MA. Bir muhabbet kuşunda aspergillus enfeksiyonu. *Doğanın Sesi Dergisi*, 2(3), 70-75, 2019.

Hoffmann K, Pawłowska J, Walther G, Wrzosek M, de Hoog GS, Benny GL, Kirk PM, Voigt K. The family structure of the Mucorales: a synoptic revision based on comprehensive multigene-genealogies. *Persoonia*, 30, 57-76, 2013.

König HE, Navarro M, Zengerling G, Korbelt R. Respiratory system (apparatus respiratorius), in *Avian Anatomy Text book and Colour Atlas*, 2nd Edn, eds H. E. König, R. Korbelt, and H. G. Liebich (Sheffield: 5M Publishing Ltd), 118-130, 2016.

Madadi MS, Ashrafi Helan J, Zare P. Mycological and pathological study of broiler mortalities associated with clinically apparent respiratory diseases. *J Animal Poult Sci*, 3(1), 29-37, 2014.

Miljković B, Pavlovski Z, Jovičić D, Radanović O, Kureljušić B. Fungi on feathers of common clinically healthy birds in Belgrade. *Biotechnol Anim Husb*, 27(1), 45-54, 2011.

Muir M, Raidal SR. Necrotising ventriculitis due to combined infection with *Rhizopus microsporus* var. *chinensis* and *Candida krusei* in an eclectus parrot (*Eclectus roratus*). *Aust Vet J*, 90, 277-280, 2012.

Núñez A, de Paz GA, Rastrojo A, García AM, Alcamí A, Gutiérrez-Bustillo AM, Moreno DA. Monitoring of airborne biological particles in outdoor atmosphere. Part 1: Importance, variability and ratios. *Inter Microbiol*, 19, 1-13, 2016.

Pitt JI, Hocking AD. *Fungi and Food Spoilage*, Chapter 4 Methods for Isolation, Enumeration and Identification. XXI, 645 Seiten, 4th ed. Springer International Publishing (Verlag), ISBN: 978-3-030-85638-0, 48-159, 2022.

Schmitz A, Korbelt R, Rinder M. Zygomycosis due to *Mucor racemosus* associated with a circovirus infection in a blue tit (*Cyanistes caeruleus*). *J Comp Pathol*. 165, 67-71, 2018.

Seyedmousavi S, Bosco SDM, de Hoog S, Ebel F, Elad D, Gomes RR, Jacobsen ID, Jensen HE, Martel A, Mignon B, Pasmans F, Pieckova E, Rodrigues AM, Singh K, Vicente VA, Wibbelt G, Wiederhold NP, Guillotet J. Fungal infections in animals: a patchwork of different situations. *Med Mycol*, 56, 165-187, 2018.

Yoder A, Joshua BJ, Benoit E, Denlinger DL, Justin L, Lawrence T, Zettler W. An endosymbiotic conidial fungus, *Scopulariopsis brevicaulis*, protects the American dog tick, *Dermacentor variabilis*, from desiccation imposed by an entomopathogenic fungus. *J Inverteb Pathol*, 97, 119-127, 2008.

THE NUTRITIVE VALUE AND HEALTH BENEFITS OF TIGERNUT (*Cyperus esculentus* L.)  
YER BADEMİ'NİN (*Cyperus esculentus* L.) BESİN DEĞERİ VE SAĞLIK YARARLARI

*Emine NAKİLCİOĞLU<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Ege University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department, Izmir, Turkey.

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4334-2900>

*Ceyda DADALI<sup>2</sup>*

<sup>2</sup>Ege University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department, Izmir, Turkey.

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2102-8582>

**ABSTRACT**

Tigernut plant is a weed of tropical and Mediterranean regions, which is a member of the family *Cyperaceae*. About 4,000 species of tigernut plant have been identified so far. Historically, the cultivation and use of tigernut tubers (tigernuts) dates back to the Egyptians around 5000 BC. The tigernut plant spread to other parts of the world from there. Nowadays, it is cultivated in many regions including Spain, United States, Nigeria, Guatemala, Chile, Mexico, Brazil, Syria, Lebanon, Jordan, Oman, Iran, Saudi Arabia, Iraq, Pakistan, Yemen, India, Morocco, Sudan, Ivory Coast, Gambia, Ghana, Guinea Bissau, Niger, Togo, Benin, Burkina Faso, Cameroon, and Mali. Tigernut resembles sweet almond. It can be collected and eaten raw or processed into different products such as tigernut milk, tigernut flour and tigernut oil. Tigernut possesses some therapeutic effects due to its nutritive composition. It has high fiber, protein, and sugar content. It is rich in oleic acid, glucose, potassium, phosphorus, and vitamins A, E, and C. Tigernut is an inexpensive food for both the rich and the poor. Lowering low-density lipoprotein cholesterol, treating gas and diarrhea, and controlling heart attacks, thrombosis, and colon cancer can be counted among the health benefits of tigernut. This review provides information on the fact that tigernut, which is more limited in use than in cultivation, contains most of the nutrients necessary for life and can be used as a supplement in the prevention and treatment of many diseases.

**Keywords:** *Cyperus esculentus* L., proximate, therapeutic effects, tigernut, vitamin C

**1. INTRODUCTION**

The plant of tigernut (*Cyperus esculentus* var. *sativus*) is a grass-like plant belonging to the sedge family. It has also been observed that it is a perennial plant found in wetlands and is the same genus as the papyrus plant (Bamishaiye and Bamishaiye, 2011). It is a monocotyledonous plant that has a tough erect fibrous root (Maduka and Ire, 2018). It can also be said to be a little-known vegetable that produces sweet nut-like tubers known as "earth almonds" (Sánchez-Zapata et al., 2012). Although it produces leaves and flourishes like plants, as the days get shorter and colder, leaf production stops, and tubers form. Tuber production increases at high temperatures and low nitrogen levels (Sanful, 2009). The tigernut's slender rhizomes compose weak runners above the ground level that develop small-sized tubers at the tip of the stem. Tigernut tubers (tigernuts) can even be found about six inches depth into the soil. The size of the tubers is comparable to that of peanuts. The central erect stem in tigernut plant is generally covered by leaves (Maduka and Ire, 2018). This plant is generally cultivated in April and tigernuts are harvested in November (Bamishaiye and Bamishaiye, 2011).

Tigernut (*Cyperus esculentus* L.) is also called by other different names such as chufa, yellow nut sedge, chew-fa, zulu nuts, ayaya, ofio, akiausa, earth nut, groundnut, edible galingale, and rush nut (Sánchez-Zapata et al., 2012; Bamishaiye and Bamishaiye, 2011).

Three varieties of tigernut such as black, brown and yellow are cultivated. Among these, yellow and brown varieties are easily available in the market. The yellow variety is preferred over other varieties due to its natural features such as bigger size, attractive color and more fleshy body. Also, the yellow variety has higher milk extraction yield and contains less fat and more protein in its structure, although its polyphenol content is low (Bamishaiye and Bamishaiye, 2011).

## **2. THE HISTORY OF TIGERNUT**

Tigernut has been known as a foodstuff since ancient times. It was consumed by adding to other products in the Nile Valley and found in predynastic tombs about 6,000 years ago. It has been reported that tigernut was roasted and consumed as confectionery in ancient Egypt. There are records from the 13th century mentioning that a drink made from tigernut was consumed in some Mediterranean regions, especially the Valencia Region (southeast of Spain) (Sánchez-Zapata et al., 2012).

Although originally tigernut is a tuber native to the Mediterranean region, today its cultivation has spread to many warm countries (Bamishaiye and Bamishaiye, 2011). Today, tigernuts are also grown in Northern Nigeria, Mali, Niger, Senegal, Togo, and Ghana where they are mainly used uncooked as a side dish. Along with these countries, other countries such as Ivory Coast and India export several tons of tigernuts every year (Sánchez-Zapata et al., 2012).

## **3. THE USAGE OF TIGERNUT**

Tigernuts can be used as a source of food, medicine and perfume. They are included in the daily diet of many people in Spain and North Africa. Tigernut can be consumed raw, dried, roasted, and baked. It can also be made into a refreshing drink called tigernut milk or "Horchata De Chufas". It can be used as a flavoring agent for ice cream and biscuits and in the production of soap, oil, flour, and starch (Bamishaiye and Bamishaiye, 2011).

## **4. THE CHEMICAL COMPOSITION AND HEALTH PROPERTIES OF TIGERNUT**

Despite its name, the tigernut is not a real nut; it is a tuber. Considering the proximate composition, the main components of tigernut appear to be carbohydrates and lipids. Carbohydrates of tigernut mainly consist of starch and dietary fiber. Tigernut contains almost twice the amount of starch compared to potato or sweet potato (Sánchez-Zapata et al., 2012). It is also reported to be rich in sucrose (17.4-20.0%), and protein (8%). The mineral content of tigernut is very rich and its basic minerals are sodium, potassium, calcium, zinc, magnesium, and traces of copper (Sanful, 2009). The high caloric value of tigernut is due to its high crude lipid and nitrogen-free extract content (Temple and Ojobe, 1990). About 100 g of tigernut can ensure about 15-22% of the daily energy needs of children (4-9 years) and 8-16% of the daily energy needs of adolescents, adults, and pregnant mothers. The vitamin C and E content of the tigernut are quite good. About 100 g of tigernut can provide about 88-100% of the recommended dietary intake for children (4-9 years) (Suleiman et al., 2018). Tigernut contains a moderate amount of protein. Also, it includes higher essential amino acids compared to those recommended in the protein standard by the FAO/WHO (1985) for adequate adult needs (Ade-Omowaye et al., 2008). It is known as a healthy tuber with its vitamin E and high oleic acid content, and this is one of the main reasons why tigernut consumption is highly recommended, especially for diabetics, children, the elderly, and athletes. (Sanful, 2009). Table 1 shows the proximate composition of tigernut.

**Table 1.** Some components in tigernut (Ekeanyanwu and Ononogbu, 2010; Sánchez-Zapata et al., 2012; Suleiman et al., 2018;).

Components	Amount
Moisture (%)	26.00
Lipid (%)	24.49
Fiber (%)	8.91
Protein (%)	5.04
Ash (%)	1.70
Starch (%)	29.90
Reducing sugar (%)	1.70
Total sugar (%)	15.42
Sucrose (%)	13.03
Carbohydrate (%)	43.30
Minerals (mg/100 g)	
Mg	118.14
K	267.18
P	158.86
Ca	43.36
Na	17.02
Cu	0.54
Fe	2.82
Zn	1.39
Vitamins (mg/100 g)	
Vitamin A	0.87
Vitamin C	30.70
Vitamin E	0.57

Tigernut can be reported as a “health” food. The consumption of tigernut can help prevent thrombosis and heart disease. It activates blood circulation. It assists in reducing the risk of colon cancer. It is a suitable food for diabetic individuals and those who want to lose weight due to its rich nutritional content (Sánchez-Zapata et al., 2012). It has been also reported that the consumption of tigernut is effective in the treatment and prevention of gastrointestinal disorders. Tigernut has an aphrodisiac, carminative, diuretic, emmanogogue, and stimulant effects. It can be used in the treatment of indigestion, flatulence, diarrhea, excessive thirst, dysentery, and colon cancer (Ade-Omowaye et al., 2008).

### 3. CONCLUSION

Tigernut is a popular product due to its small-sized tubers, which have a sweet nutty flavor when chewed raw. As a result of processing these raw tubers, different products such as tigernut flour, tigernut milk or tigernut oil can be obtained. It is seen that the use and consumption of tigernut are increasing worldwide. This may be related to the excellent composition of tigernut, particularly its protein and fiber content. Protein is known to help body development and tissue repair and the protein content in tigernut can reach up to 9.70%. The fiber content of tigernut helps to reduce cholesterol and body weight. Tigernut has many other health benefits. There is a need to raise awareness about the development of new products from tigernut and their consumption. I think that due to its inherent nutritional and therapeutic advantages, the consumption of tigernut can be expanded and its transformation into value-added products can be increased.

### 4. REFERENCES

- Ade-Omowaye, B. I. O., Akinwande, B. A., Bolarinwa, I. F., & Adebisi, A. O. (2008). Evaluation of tigernut (*Cyperus esculentus*) wheat composite flour and bread. *African Journal of Food Science*, 2(1), 87-91.
- Bamishaiye, E. I., & Bamishaiye, O. M. (2011). Tiger nut: as a plant, its derivatives and benefits. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 11(5), 5157-5170.

- Ekeanyanwu, R. C., & Ononogbu, C. I. (2010). Nutritive value of Nigerian tigernut (*Cyperus esculentus* L.). *Agricultural Journal*, 5(5), 297-302.
- Maduka, N., & Ire, F. S. (2018). Tigernut plant and useful application of tigernut tubers (*Cyperus esculentus*)—A review. *Curr. J. Appl. Sci. Technol*, 29(3), 1-23.
- Sanful, R. E. (2009). Production and sensory evaluation of tigernut beverages. *Pak J Nutr*, 8(5), 688-690.
- Sánchez-Zapata, E., Fernández-López, J., & Angel Pérez-Alvarez, J. (2012). Tiger nut (*Cyperus esculentus*) commercialization: health aspects, composition, properties, and food applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(4), 366-377.
- Suleiman, M. S., Olajide, J. E., Omale, J. A., Abbah, O. C., & Ejembi, D. O. (2018). Proximate composition, mineral and some vitamin contents of tigernut (*Cyperus esculentus*). *Clinical Investigation*, 8(4), 161-165.
- Temple, V. J., Ojobe, T. O., & Kapu, M. M. (1990). Chemical analysis of tiger nut (*Cyperus esculentus*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 50(2), 261-263.

**COLD BREW COFFEE: CHEMICAL AND SENSORY PROPERTIES**  
**SOĞUK DEMLENMİŞ KAHVE: KİMYASAL VE DUYUSAL ÖZELLİKLERİ**

*Ceyda DADALI<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Ege University, Engineering Faculty, Food Engineering Department, İzmir, Turkey*

<sup>1</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2102-8582>*

*Emine NAKİLCİOĞLU<sup>2</sup>*

<sup>2</sup>*Ege University, Engineering Faculty, Food Engineering Department, İzmir, Turkey*

<sup>2</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4334-2900>*

**ABSTRACT**

Coffee brewing is a solid-liquid extraction and process variables influence the extraction kinetics of chemical compounds present in roasted coffee. The coffee extraction is the final step of coffee brew production. Coffee extraction generally only takes a few minutes, but this extraction affects the brew quality. Coffee brewing methods change depending on the geographic, cultural, and social environment in addition to individual preferences. The coffee brewing method affects final coffee beverage properties such as polyphenol extraction, caffeine content, total solids, antioxidant activity and volatile compounds. Although there are several coffee preparation methods, brewing water temperature is usually consistent and hot water is used to increase the extraction yield. In addition to consumers hot coffee preference, the consumption of cold brew coffee is increasing. The cold brew coffee extraction includes longer extraction times at colder temperatures (room temperature or less), rather than rapid exposure to high temperatures. Chemical composition and sensory properties of cold brew coffee are differentiated from coffee prepared with hot water. Coffee compounds need more contact time to extract from the coffee using cold brewing. Depending on cold brewing method cold extraction takes 6-24 h. The cold brew coffee has become one of the most popular beverages in specialty coffee shops around world. The concentrations of caffeine, chlorogenic acid, and trigonelline, and in the flavour profile was affected by cold extraction methods and times. Volatile compounds from furans, pyrazines, ketones, aldehydes, pyrroles, esters, lactones, furanones and phenols were determined in cold brew coffees. Cold brewed coffees are characterized by intense sweetness, fruity and floral flavours, medium bitterness and acidity, and a creamy body. The aim of this study is to provides information about cold brew coffee preparation method and its effect on chemical and sensory properties of cold brew coffee.

**Keywords:** cold brew, coffee, sensory properties, chemical properties

**1. INTRODUCTION**

Coffee is one of the most widely consumed beverages due to its pleasant flavour and stimulating properties. Several different coffee brewing methods have been introduced in recent years, and consumer preferences for brewing are influenced by geographic, cultural, social environment and personal preferences (Illy and Viani, 2005).

Coffee brewing is defined as a solid-liquid extraction in which the process parameters influence the extraction of different chemical compounds in the roasted coffee (Cordoba et al., 2020). Volatile and non-volatile chemical compounds are produced through Maillard pyrolysis and Strecker decomposition reactions upon roasting (Seninde and Chambers, 2020). In the extraction step, soluble and insoluble compounds are dissolved in the extraction water and depending on the extraction technique. These dissolved or suspended compounds in the extract significantly affect the perceived sensory properties of coffee brew (Sanchez-Lopez et al., 2016).

Furthermore, various studies have focused on the specific modes of coffee extraction, in particular espresso and coffee obtained by infusion. In the previous studies effect of the product botanical variety and geographical origin of beans (product), roasting degree, and grinding (process) and contact time between coffee and water, temperature and pressure (extraction) on physicochemical and sensory properties of different methods (Gloess et al., 2013; Caporaso et al., 2014).

The coffee brewing method influence final coffee beverage properties namely, polyphenol extraction, caffeine content, total solids, antioxidant activity and volatile compounds (López-Galilea et al., 2007). During extraction, soluble compounds are dissolved and, depending on the extraction methods, non-soluble compounds are washed with the extraction water, ending up in the extract as dissolved or suspended solids (Caprioli et al., 2015).

Due to the consumers quality and healthy drinks preference, demand for coffee brews production with high and unique sensory properties increased (Barbosa et al., 2019). In line with trends, cold brew coffee has become one of the most popular beverages in specialty coffee shops. According to market analysis results the cold brew coffee market is expected to reach US\$1.37 billion by 2023 (Córdoba et al., 2021).

The coffee preparation technics stated in the literature change widely because each method has a specific recipe. On the other hand, brewing water temperature is usually consistent and hot water is used to increase the extraction yield. However, extraction studies have shown that different aromatic compounds are extracted at different extraction temperatures (Salamanca et al., 2017). Despite hot coffee preference, recently the consumption of cold coffee has increased in northern European countries, the USA and Japan. The cold brew coffee extraction includes longer extraction times at colder temperatures (room temperature or less), rather than rapid exposure to high temperatures. This, cold brew method, indicates a coffee produced by cold extraction, and should not be confused with cold coffee, which is obtained using a hot water and left to cool down (Angeloni et al., 2019). The aim of this study is to provides information about cold brew coffee preparation method and its effect on chemical and sensory properties of cold brew coffee.

## **2. COLD BREW COFFEE PRODUCTION AND THE EFFECT OF COLD BREWING ON COFFEE CHARACTERISTICS**

Coffee consumers usually prefer healthy and high-quality beverages, which will lead to increasing demand for the production of coffee brews with better and unique sensory characteristics. It is suggested that cold brew coffee will become one of the most popular drinks in the world (Portela et al., 2021). For cold brew coffee preparation some recipes were developed using cold water have been developed. The cold brewing methods differentiated with apparatus configuration, contact time of water and coffee, and water temperature. Currently, temperature variation has driven the development of new methods for coffee brewing. On the other hand, they can be categorized into two main methods namely, cold brew and cold drip. In the cold brew method, coffee powder is steeped in a volume of water at room temperature or colder for a long time (6 h or more) and then separated by pressing. In the cold drip method, water at room temperature or colder is slowly dripped onto a coffee panel supported by a filter and the coffee is obtained (Angeloni et al., 2019).

Although the growing popularity of cold brew coffee, there are few scientific papers regarding their chemical attributes and flavour profiles. The low extraction temperature improves the extraction of high-polarity compounds. However, other coffee compounds need more contact time to extract from the coffee. As result, lower extraction temperature conditions, more extraction time is needed (6 -24 h). Since extraction temperature significantly affects aqueous compound solubility, the chemical compositions between hot- and cold brew coffees is different (Fuller and Rao, 2017).

The research on cold brew coffee volatiles is still rare and needs to be expanded. Volatile compounds from furans, pyrazines, ketones, aldehydes, pyrroles, esters, lactones, furanones and phenols were determined in cold-brew coffee prepared at 19 °C using Colombian coffee (Cordoba et al., 2019). Also, 2-methyl-butanal, 5-methylfurfural and dihydro-2-methyl- 3(2H)-furanone were determined in cold-brew coffee prepared by immersion (Cordoba et al., 2021). The abundance of volatiles such as 2-(methylsulfanylmethyl)furan, 2-(furan-2-ylmethyl) furan, 2-(furan-2-yl)furan, 2-(furan-2-yl-methyl)-5-methylfuran, 4-ethenyl-2-methoxyphenol, 1-(furan-2-yl-methyl)pyrrol and 3-methylbutanal were effective in differentiation of cold brew and hot brew coffee (Rao et al., 2020; Wang et al., 2022).



Since the extraction conditions namely, time, temperature are unique, cold brew preparation provides a beverage typically characterised by sweetness and chocolate notes, which can be different from hot-brewed coffee (Angeloni et al., 2019; Mestdagh et al., 2014). Angeloni et al. (2019) observed differences in flavour profiles between cold brew methods and temperatures, as measured in terms of bitterness, sweetness, sourness, and global intensity. Furthermore, coffees brewed at 22 °C are described by intense sweetness, fruity and floral flavours, medium bitterness and acidity, and a creamy body (Cordoba et al., 2019). Several coffee retailers advertise cold brew coffee, claiming smoother taste, less bitterness, sweet taste, and low acidity. On the other hand, limited scientific studies implemented about cold brew coffee chemical and flavour analysis. This situation shows a lack of information to support the claims of sellers. Additionally, the effect of the extraction variables on the flavour and chemical characteristics remains unclear (Cordoba et al., 2020).

Cold brew should be integrated with other factors which affect coffee aroma and quality, such as species and variety, origin, processing and roasting. These factors could not only produce a favorite coffee beverage but also could produce coffee with better biological activity. According to the previous studies cold extraction could influence active substance content in cold brew coffee (Portela et al., 2021). Recent studies found significant differences in the concentrations of caffeine, chlorogenic acid, and trigonelline, and in the flavour profile between different cold extraction methods and times (3,6,9, and 18 h) (Kim and Kim, 2014). Fuller and Rao (2017) investigated equilibrium concentrations of caffeine and 3-chlorogenic acid (3-CGA) in cold brew coffee and hot French press methods prepared from coffees having different roast degrees and grinding conditions. It was shown that cold brew coffee made from medium roasted beans had higher 3-CGA and caffeine concentrations and reached equilibrium at between 6 and 7 h of extraction. However, Lane et al. (2017) determined that the caffeine concentration in cold brew coffee did not differ from hot coffee. Also, cold brew coffees have distinct chemical differences when prepared at 25 °C and 4 °C. It was found that cold brew coffee prepared at higher extraction temperature (22 °C) increased the total solids content, caffeine, caffeoylquinic acid, 5-CGA concentrations compared to cold brew coffee prepared at 5 °C extraction temperature (Angeloni et al., 2019).

The studies on cold brew coffee have evaluated bioactive compounds, because of recent studies showing the potential health benefits of coffee intake. It was determined that the polysaccharides isolated from cold brew improve macrophage function and the intestinal immune system (Shin, 2017). In addition, the acidity and antioxidant activity of cold brew coffee obtained from light roast coffees from different countries were investigated. The cold brew coffee had lower acidity than hot brew coffee extracts prepared from the same beans. On the other hand, hot brew coffees had higher antioxidant levels than cold brew coffees (Rao and Fuller, 2018)

### 3. CONCLUSION

The cold brew coffee is one of the most popular beverages in specialty coffee shops. The cold brewing method significantly affect the chemical composition and sensory properties of coffee. The concentrations of caffeine, chlorogenic acid, and trigonelline, and in the flavour profile was affected by cold extraction methods and times. The cold brew coffee made from medium roasted beans had higher caffeine, 3-CGA concentrations and antioxidant activity but lower acidity than hot brew coffees. Volatile compounds from furans, pyrazines, ketones, aldehydes, pyrroles, esters, lactones, furanones and phenols were determined in cold brew coffees. The concentration of volatiles such as 2-(methylsulfanylmethyl)furan, 2-(furan-2-ylmethyl) furan, 2-(furan-2-yl)furan, 2-(furan-2-yl-methyl)-5-methylfuran, 4-ethenyl-2-methoxyphenol, 1-(furan-2-yl-methyl)pyrrol and 3-methylbutanal can be used in differentiation of cold brew coffees. Cold brewed coffees are characterized by intense sweetness, fruity and floral flavours, medium bitterness and acidity, and a creamy body.

### 4. REFERENCES

Angeloni, G., Guerrini, L., Masella, P., Innocenti, M., Bellumori, M., & Parenti, A. (2019). Characterization and comparison of cold brew and cold drip coffee extraction methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(1), 391-399.

Barbosa, M. D. S. G., dos Santos Scholz, M. B., Kitzberger, C. S. G., & de Toledo Benassi, M. (2019). Correlation between the composition of green Arabica coffee beans and the sensory quality of coffee brews. *Food Chemistry*, 292, 275-280.

Based perhaps on the above compounds produced by the special brew method, cold-brew coffee is considered to show typically chocolate and intense sweetness notes, fruity and floral odor notes, medium bitterness and acidity, and a creamy body.89,96 wang et al 2022

Caporaso, N., Genovese, A., Canela, M. D., Civitella, A., & Sacchi, R. (2014). Neapolitan coffee brew chemical analysis in comparison to espresso, moka and American brews. *Food Research International*, 61, 152-160.

Caprioli, G., Cortese, M., Sagratini, G., & Vittori, S. (2015). The influence of different types of preparation (espresso and brew) on coffee aroma and main bioactive constituents. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 66(5), 505-513.

Cordoba, N., Fernandez-Alduenda, M., Moreno, F. L., & Ruiz, Y. (2020). Coffee extraction: A review of parameters and their influence on the physicochemical characteristics and flavour of coffee brews. *Trends in Food Science & Technology*, 96, 45-60.

Cordoba, N., Fernandez-Alduenda, M., Moreno, F. L., & Ruiz, Y. (2020). Coffee extraction: A review of parameters and their influence on the physicochemical characteristics and flavour of coffee brews. *Trends in Food Science & Technology*, 96, 45-60.

Córdoba, N., Moreno, F. L., Osorio, C., Velásquez, S., & Ruiz, Y. (2021). Chemical and sensory evaluation of cold brew coffees using different roasting profiles and brewing methods. *Food Research International*, 141, 110141.

Córdoba, N., Moreno, F. L., Osorio, C., Velásquez, S., Fernandez-Alduenda, M., & Ruiz-Pardo, Y. (2021). Specialty and regular coffee bean quality for cold and hot brewing: Evaluation of sensory profile and physicochemical characteristics. *LWT*, 145, 111363.

Cordoba, N., Pataquiva, L., Osorio, C., Moreno, F. L. M., & Ruiz, R. Y. (2019). Effect of grinding, extraction time and type of coffee on the physicochemical and flavour characteristics of cold brew coffee. *Scientific reports*, 9(1), 1-12.

Fuller, M., & Rao, N. Z. (2017). The effect of time, roasting temperature, and grind size on caffeine and chlorogenic acid concentrations in cold brew coffee. *Scientific reports*, 7(1), 1-9.

Fuller, M., & Rao, N. Z. (2017). The effect of time, roasting temperature, and grind size on caffeine and chlorogenic acid concentrations in cold brew coffee. *Scientific reports*, 7(1), 1-9.

Gloess, A. N., Schönbächler, B., Klopprogge, B., D'Ambrosio, L., Chatelain, K., Bongartz, A., ... & Yeretizian, C. (2013). Comparison of nine common coffee extraction methods: instrumental and sensory analysis. *European Food Research and Technology*, 236(4), 607-627.

Illy, A., & Viani, R. (Eds.). (2005). *Espresso coffee: the science of quality*. Academic Press.

KEMENT, Ü., BAŞAR, B., & GÜNER, Ç. ÜÇÜNCÜ NESİL KAHVE DEMLEME YÖNTEMLERİNDE DUYULARIN ROLÜ. *Gastroia: Journal of Gastronomy And Travel Research*, 6(2), 277-293.

Kim, A. R., & Kim, J. S. (2014). Flavor contributing nonvolatile chemical and sensory characterization of cold water extraction-based coffee by different extraction methods (dripping vs steeping) and time. *Journal of The Korea Society for Coffee Industry*, 3(1), 1-9.

López, J. A. S., Wellinger, M., Gloess, A. N., Zimmermann, R., & Yeretizian, C. (2016). Extraction kinetics of coffee aroma compounds using a semi-automatic machine: On-line analysis by PTR-ToF-MS. *International Journal of Mass Spectrometry*, 401, 22-30.

López-Galilea, I., De Pena, M. P., & Cid, C. (2007). Correlation of selected constituents with the total antioxidant capacity of coffee beverages: Influence of the brewing procedure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(15), 6110-6117.

Portela, C., de Almeida, I. F., Mori, A. L. B., Yamashita, F., & de Toledo Benassi, M. (2021). Brewing conditions impact on the composition and characteristics of cold brew Arabica and Robusta coffee beverages. *LWT*, *143*, 111090.

Rao, N. Z., Fuller, M., & Grim, M. D. (2020). Physiochemical characteristics of hot and cold brew coffee chemistry: The effects of roast level and brewing temperature on compound extraction. *Foods*, *9*(7), 902.

Rao, N. Z., Fuller, M., & Grim, M. D. (2020). Physiochemical characteristics of hot and cold brew coffee chemistry: The effects of roast level and brewing temperature on compound extraction. *Foods*, *9*(7), 902.

Salamanca, C. A., Fiol, N., González, C., Saez, M., & Villaescusa, I. (2017). Extraction of espresso coffee by using gradient of temperature. Effect on physicochemical and sensorial characteristics of espresso. *Food chemistry*, *214*, 622-630.

Seninde, D. R., & Chambers IV, E. (2020). Coffee flavor: A review. *Beverages*, *6*(3), 44.

Shin, K. S. (2017). The chemical characteristics and immune-modulating activity of polysaccharides isolated from cold-brew coffee. *Preventive nutrition and food science*, *22*(2), 100.

Wang, X., Wang, Y., Hu, G., Hong, D., Guo, T., Li, J., ... & Qiu, M. (2022). Review on factors affecting coffee volatiles: From seed to cup. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *102*(4), 1341-1352.

**HOLSTEIN IRKI BUZAĞIDA PARSİYEL ÖN BACAĞI AMPÜTASYONU VE PROTEZ  
BACAĞI UYGULAMASI**  
**PARTIAL AMPUTATION OF FORELIMB AND PROSTHETIC LEG APPLICATION IN A  
HOLSTEIN CALF**

**Eser ÇAKMAKÇI<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Öğretim Görevlisi, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı,  
Aydın, Türkiye.*

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5784-6291>

**Ahmet GÜRSEL<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>*Veteriner Hekim, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı,  
Aydın, Türkiye.*

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4201-2419>

**Ahmet Ege ERDOĞAN<sup>3</sup>**

<sup>3</sup>*Veteriner Hekim, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı,  
Aydın, Türkiye.*

<sup>3</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2618-1498>

**Gencer ÇELİK<sup>4</sup>**

<sup>4</sup>*Veteriner Hekim, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı,  
Aydın, Türkiye.*

<sup>4</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4773-3661>

**Ali BELGE<sup>5</sup>**

<sup>5</sup>*Profesör Doktor, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı,  
Aydın, Türkiye.*

<sup>5</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3346-6926>

**ABSTRACT**

**Introduction:** The aim of this study was presented the results of prosthetic leg applied after partial amputation of the left forelimb in a calf who was brought to the surgical clinic of Aydın Adnan Menderes University Veterinary Hospital.

**Material and Method:** A 1-month-old, female, Holstein calf weighing 55 kg was subjected. The calf was observed to have had a congenital rotation of the carpus joint towards the outside on its left forelimb. Support bandaging was applied at an external center with the aim of treatment. Due to complications of the bandaging, an infected open fracture was formed at the distal to carpus joint. Clinical examination revealed damage to the integrity of the skin, bone, and joint. The owner abandoned the calf at the hospital. Parenteral intensive antibiotic (amoxicillin/clavulanic acid) and local antiseptic (batticon) compress treatment were applied for five days to control the infection, and a decision was made for partial amputation. The calf was induced with the injection of xylazine hydrochloride (0.1 mg/kg of) and 10 minutes later ketamine hydrochloride (4 mg/kg of). Endotracheal intubation was performed, and anesthesia was maintained with 2% isoflurane, in 100% O<sub>2</sub> saturation. The hair in the region was shaved, and disinfection was provided. Under aseptic and antiseptic conditions, a circular skin incision was made above the carpus joint in the shape of a carp fish mouth. The radius-ulna was cut with a gigli wire saw at the above carpus joint. The bleeding was controlled, and the region was closed and protected with a dressing. After the healing of the operation site and the elimination of the infection, measurements

necessary for the prosthesis were taken. Radiographs were taken for the comparison of the healthy and amputated legs. A 14 mm diameter and 14 cm length deep grooved medullary implant and an 18 mm diameter and 30 cm length implant specially designed for the external part were prepared. Standard operation preparations were followed under general anesthesia, and the medulla of the radius was evacuated, the bleeding was controlled, the medulla was filled with bone cement, and the prosthesis was placed. The soft tissue was closed after the necessary controls were made.

**Conclusion:** The calf was discharged from the recovery box without any complications and was observed to be able to walk with the prosthetic leg. It was decided to monitor until the slaughter weight was reached.

**Keywords:** Calf, extremity deformity, prosthesis application.

## 1. INTRODUCTION

Due to the complex nature of the procedure, economic concerns, long-term care, and unpredictable outcomes, leg amputation is not as commonly performed as digital amputation (Bonow et al., 2021; Crawley et al., 1989; Gamsjaeger & Chigerwe, 2018; Schoiswohl et al., 2020; Tuttle et al., 2007). However, with an increase in the number of valuable animals and concerns for animal welfare, extremity amputations are also being performed according to the wishes of animal owners (Erdikmen et al., 2012; Gamsjaeger & Chigerwe, 2018).

Possible complications following extremity amputation include contralateral leg breakdown injuries, permanent lameness, recumbency, poor return to production, and low quality of life. Prosthetic applications can be effective in preventing these complications (Bonow et al., 2021; Crawley et al., 1989; Erdikmen et al., 2012; Golachowski et al., 2019).

Among the indications for leg amputation, the most common are open, comminuted fractures of long bones and osteomyelitis (Mohiuddin et al., 2018; Sato et al., 2017; Tuttle et al., 2007). Other indications for amputation include loss of vascular blood flow to the extremity, clostridial infections, severe tearing of muscles, tendons, and nerves, and chronic septic arthritis (Sato et al., 2017; Bonow et al., 2021; Coxan, 1945).

Criteria taken into consideration when deciding on amputation include the affected leg, the condition of the contralateral leg, the animal's intended use, treatment cost, and the owner's responsibility (Desrochers et al., 2014; Kelmer et al., 2004).

Prosthetics are recommended for genetically valuable, economically valuable, or personally valuable cattle after amputation. The prosthetic will improve weight-bearing, protect other legs from stress, and extend the animal's expected lifespan (Mohiuddin et al., 2018; Orsini et al., 1985; Shelton et al., 2011).

In this case report, we discuss the prosthetic leg applied after partial amputation of the left front leg in a calf and the results obtained.

## 2. CASE REPORT

The subject of this case report is a 1-month-old female Holstein calf with a weight of 55 kg. The calf was born with a rotational deformity of the left front leg at the distal end of the carpal joint, which resulted in the leg being rotated outwards. A support bandage was applied in a clinic for treatment purposes. However, due to complications arising from the bandage, an open infected fracture was formed at the distal end of the carpal joint, causing disruption to the integrity of the skin, bone, and joint. The owner abandoned the calf at the hospital.

To control the infection, intensive parenteral antibiotics (amoxicillin/clavulanic acid) and local antiseptic compresses (batikon) were applied for five days, and partial amputation was decided upon completion of the period. The calf was induced with xylazine hydrochloride (0.1 mg/kg, IM) and ketamine hydrochloride (4 mg/kg, IM) injection. Endotracheal intubation was performed, and anesthesia was maintained with 2% isoflurane in 100% O<sub>2</sub> saturation. The calf was placed on the table in a right lateral position, with the affected leg kept above the other leg. The area was shaved and disinfected (Figure 1).



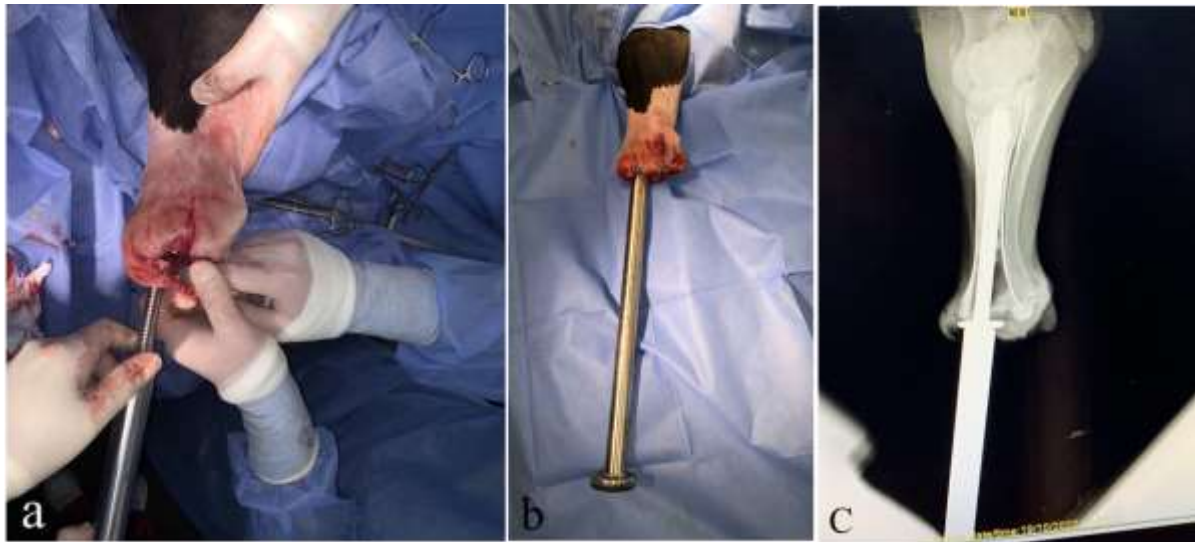
**Figure 1.** The position of the calf on the operating table before the operation and the view of the amputated leg.

Under aseptic and antiseptic conditions, a circular skin incision was made just above the carpal joint using a "fish-mouth" technique. The bone was exposed by blunt dissection of the underlying tissues. Bleeding was controlled, and the radius-ulna was cut using a bone saw just above the carpal joint. Medullary and cortical bleeding was controlled, and 0-poliglactin 910 was used to stitch a soft tissue mass at the distal end of the bone. The skin was closed with 2-0 monofilament nylon sutures and protected under a dressing. After the surgical site had healed, measurements were taken for a prosthesis. Radiographs were taken to compare the normal and amputated legs. An implant was designed (Figure 2), with a 14 mm diameter and 14 cm length deep-grooved section to be placed inside the medulla, and an 18 mm diameter and 30 cm length section to be placed outside the medulla.



**Figure 2.** Appearance of the prosthesis designed as intramedullary and bone cement.

After emptying the medulla of the radius bone under general anesthesia, the prosthesis was inserted after filling the medulla with dense bone cement (Figure 3).



**Figure 3.** Intraoperative application of intramedullary prosthesis (a), appearance after the prosthesis application (b), postoperative radiographic appearance (c).

Soft tissue was checked, and the wound was closed. The calf was placed in a recovery stall and monitored for 6 hours. On the 24-hour follow-up examination, it was found that the calf was able to stand and walk (Figure 4). It was decided to monitor the calf until it reached the desired weight for slaughter.



**Figure 4.** The appearance of the calf in the box on the first postoperative day, putting weight on the leg.

### 3. DISCUSSION

Although digital amputation is frequently performed in farm animals, there is little data available on leg amputation and prosthetic application. The significant increase in the economic value of calves has led to the consideration of prosthetic applications after amputation (Crawley et al., 1989; Erdikmen et al., 2012; Gamsjaeger & Chigerwe, 2018). In the presented case, partial leg amputation was performed at the request of the owner due to complications that arose during bandaging of a calf with congenital contracture and distal rotation from the carpal joint.

Although digital amputations are commonly performed in farm animals, there is limited data available on leg amputations and prosthetic applications. However, the increased economic value of calves has brought about the possibility of post-amputation prosthetic application (Bonow et al., 2021; Gabriel et al., 2017; Gamsjaeger & Chigerwe, 2018). In the presented case, partial leg amputation was performed

on a calf with congenital contracture and distal rotation of the carpal joint due to complications that arose during bandaging.

Following partial leg amputation, domestic and wild ruminants are able to continue breeding. Amputation has shown positive outcomes in cases of leg injuries that cannot be healed due to the lower adult body weights of goats and sheep compared to cattle (Bonow et al., 2021; Erdikmen et al., 2012; Gabriel et al., 2017; Gamsjaeger & Chigerwe, 2018; Golachowski et al., 2019). The amputation was planned in consideration of the calf's age and weight, and was not performed with the intention of allowing future breeding.

Amputation is considered a definitive treatment option when other methods have failed. Factors such as the pathological changes in the affected limb, the patient's temperament, the cost of surgery and prosthetics, and the owner's willingness to provide comprehensive and continuous care are taken into account when deciding to amputate (Mohiuddin et al., 2018; Orsini et al., 1985; Sato et al., 2017). When the bandage previously applied to the calf was removed, it was observed that the leg had separated from the carpal joint, the joint surfaces were exposed, and only a limited amount of skin was holding the leg in place. In addition, inflammation was present in the area. The benefit of other treatment options was considered unlikely, and the decision was made to amputate the calf's leg in a humane manner.

Extremity amputations can be performed either through diaphyseal amputation or joint disarticulation. Disarticulation provides a wider weight-bearing surface, reduces bleeding, and results in faster soft tissue healing, while also reducing the risk of sharp bone edges. Diaphyseal amputation is performed in cattle at the distal third of the tibia, proximal radius-ulna, middle femur, middle humerus, distal femur, proximal metatarsus, and distal metacarpus, while in sheep and goats it is performed on the radius, ulna, tibia, femur, humerus, and metatarsus (Coxan, 1945; Desrochers et al., 2014). In horses, the most suitable site for leg amputation is reported to be the proximal metacarpal or metatarsal region, approximately 5 to 10 cm distal to the carpal or tarsal joint (Crawley et al., 1989; Kelmer et al., 2004). In this particular case, the carpal joint of the calf was exposed, and due to the position of the soft tissue and skin, disarticulation was not possible. Therefore, diaphyseal amputation was performed at the distal radius-ulna.

If amputation has to be performed close to the joint and there is not enough skin to close the incision, the surgical wound can be managed open and allowed to heal secondarily. If amputation is performed through the diaphysis, there will be more intraoperative bleeding. Care should be taken to evaluate bleeding from the bone marrow cavity. Appendicular vessels and nerves are sharply cut and ligated. To minimize the risk of painful neuroma formation and prevent inadvertent contact or pressure with the ground or prosthesis, nerves are recommended to be cut as proximally as possible (Gamsjaeger & Chigerwe, 2018; Mohiuddin et al., 2018). The primary goal of amputation surgery is to restore normal function for ambulation. Preserving leg length and sensory ability are important. Maximum care should be taken in preparing flaps to maintain blood flow to the amputation site. Adequate blood flow to the amputation site is mandatory. Physical and arteriographic examinations can be performed for this purpose (Coxan, 1945; Desrochers et al., 2014). The leg was amputated from the distal radius-ulna. The skin was incised in a fish-mouth shape, making it easy to close the bone tissue. In addition, no problems were encountered in the postoperative period except for local suture line infection. There were no problems with the blood supply to the tissue in the area.

The most common complications after surgery in small ruminants include tendon ruptures and contralateral leg laxity, chronic intermittent lameness, surgical site infection, and angular limb deformities. It is reported that the animal's posture changes to adapt to the changing weight distribution, leading to loss of symmetry. The contralateral leg cannot withstand constant stress and is prone to injuries caused by mechanical overload of muscles, tendons, and ligaments ((Bonow et al., 2021; Crawley et al., 1989; Golachowski et al., 2019). The calf was able to maintain balance on three legs in the first few days after amputation. With an increase in weight, it gradually had difficulty maintaining balance. During this time, it was supported with an external prosthesis. After a while, there was opening at the heel joint of the contralateral leg and stretching of the tendons. The calf spent a significant amount of time lying down during this period.



It has been reported that hind limb amputations in calves heal better than forelimb amputations. It is emphasized that the effective attachment of the hind limbs to the body through the sacroiliac joint and the attachment of the forelimbs with a muscular strap play a role in this (Coxan, 1945; Desrochers et al., 2014). In the case presented, a forelimb was amputated and it was observed that the scapula on the opposite leg moved higher than normal when the calf stood up. It was thought that this was due to the fact that the attachment of the forelimbs to the main body is only limited to muscles, parallel with the literatures.

After limb amputation, both external and internal skeletal prostheses are generally applied. Endoskeletal prostheses have an internal frame that mimics the shape and biomechanics of the bones. They are made of lightweight alloys and carbon fibers. Each piece can be adjusted and replaced according to the patient's needs. The external skeletal prosthesis has an outer frame made of carbon fiber or fiberglass. These prostheses are more voluminous, heavier, and may be difficult to adjust. The body mass and circumference of cattle mostly lead to the preference of external skeletal prostheses (Desrochers et al., 2014; Mohiuddin et al., 2018; Shelton et al., 2011). In the presented case, a prosthesis was applied by placing an intramedullary metal alloy implant in the calf. Bone cement was used to fix the implant inside the medulla. The cement solidified quickly, allowing the prosthesis to firmly settle inside the medulla.

The short-term prognosis after amputation is generally good. Beef cattle can be sent for slaughter at an appropriate weight without breaking the opposite leg. The long-term prognosis depends on the animal's weight, environmental management, and the owner's dedication. Cows should not be bred or allowed to become pregnant (Bonow et al., 2021; Crawley et al., 1989; Schoiswohl et al., 2020; Tuttle et al., 2007). Data on long-term follow-up after limb amputation in cattle and horses is limited. In reports related to horses (Crawley et al., 1989), it is stated that at 18 months, 50% and at 26 months, 32.5% were successful. Sheeps and goats are generally monitored for 2-4 months, but there are reports of a sheep living for 14 months and a goat living for 3 years after the amputation. The calf has been monitored for approximately 8 months and has been found to develop well, continuing to live with a slight limp.

In conclusion, the intramedullary prosthesis applied after the amputation at the radius-ulna diaphysis improved weight-bearing, assisted in protecting other legs against stress fractures, and extended the expected lifespan of the animal.

#### 4. REFERENCES

- Bonow, M.O., Veado, H.C., Borges, J.R.J., Soto-Blanco, B. & Câmara, A.C.L. (2021). Forelimb amputation and long-term follow-up in a White Dorper ram. *Veterinary Record Case Reports*, 9(64). <https://doi.org/10.1002/vrc2.64>.
- Coxan B.W. (1945). Amputation of the leg of a cow. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 9(1).
- Crawley, G.R., Grant, B.D., Krpan, M. K., & Major, M.D. (1989). Long-term follow-up of partial limb amputation in 13 horses. *Veterinary Surgery*, 18(1), 52–55. <https://doi.org/10.1111/j.1532-950x.1989.tb01043.x>
- Desrochers, A., St-Jean, G., & Anderson, D. E. (2014). Limb amputation and prosthesis. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 30(1), 143–vi. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2013.11.005>
- Erdikmen, D.O., Özsoy, S., Aydın, D., Hasimbegoviç, H. & Dönmez, K. (2012). Partially forelimb amputation and application of an artificial limb (prosthetics) in a free-ranging Red Deer (*Cervus elaphus*). *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 18 (2): 347-350.
- Gabriel A. A., Hussain S., Adamu SS, L., Hayah N.K. & Rozanaliza R. (2017). Mid diaphyseal femoral amputation in a Saanen-Cross-Kid with multiple compound fractures of the right hind limb. *Journal of Veterinary Medicine and Surgery*, 1(4),16.
- Gamsjaeger, L., & Chigerwe, M. (2018). Indications for and outcomes of limb amputation in goats and sheep. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 252(7), 860–863. <https://doi.org/10.2460/javma.252.7.860>

- Golachowski, A., Al Ghabri, M. R., Golachowska, B., Al Abri, H., Lubak, M., & Sujeta, M. (2019). Implantation of an intraosseous transcuteaneous amputation prosthesis restoring ambulation after amputation of the distal aspect of the left tibia in an Arabian Tahr (*Arabitragus jayakari*). *Frontiers in Veterinary Science*, 6, 182. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00182>
- Kelmer, G., Steinman, A., Levi, O. & Johnston, D.E. (2004), Amputation and prosthesis in a horse: short- and long-term complications. *Equine Veterinary Education*, 16: 235-240. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3292.2004.tb00304.x>
- Mohiuddin, M.J., Hasan, M., Shohag, M., Ferdousy, R., Alam, M., & Juyena, N. (2018). Surgical management of limb fractures in calves and goats. *Bangladesh Veterinary Journal*, 52(1-4): 46-56. <https://doi.org/10.32856/BVJ-2018.06>
- Orsini, J.A., Warner, A., Dyson, S. & Nunamaker, D. (1985). Lower extremity amputation and application of a prosthetic device in a 1-month-old calf. *Veterinary Surgery*, 14: 307-309. <https://doi.org/10.1111/j.1532-950X.1985.tb00893.x>
- Rush, E. M., Turner, T. M., Montgomery, R., Ogburn, A. L., Urban, R. M., Sidebotham, C., & LaVasser, A. (2012). Implantation of a titanium partial limb prosthesis in a white-naped crane (*Grus vipio*). *Journal of Avian Medicine and Surgery*, 26(3), 167–175. <https://doi.org/10.1647/2009-012R2.1>
- Sato, R., Sumiyoshi, T., Tsukamoto, A., Kanai, E., Kawai, K., Shinozuka, Y., Ochiai, H. & Onda, K. (2017). A Holstein heifer that delivered following amputation of a fractured limb. *Large Animal Review*, 23, 115-117.
- Schoiswohl, J., Degasperi, B., Schieder, K., Ertelt, K., & Kofler, J. (2020). Gliedmaßenamputation bei 2 kleinen wiederkäuern [Limb amputation in 2 small ruminants]. *Tierärztliche Praxis. Ausgabe G, Grosstiere/Nutztiere*, 48(3), 191–197. <https://doi.org/10.1055/a-1162-0247>
- Shelton, T. J., Beck, J. P., Bloebaum, R. D., & Bachus, K. N. (2011). Percutaneous osseointegrated prostheses for amputees: Limb compensation in a 12-month ovine model. *Journal of biomechanics*, 44(15), 2601–2606. <https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2011.08.020>
- Tuttle, A. D., Frederico, L., Linder, K., Gunkel, C., Remick, A., & Redding, R. (2007). Pathological fracture of the ulna due to osteosarcoma in an Arabian camel (*Camelus dromedarius*). *The Veterinary Record*, 161(1), 30–33. <https://doi.org/10.1136/vr.161.1.30>

**A CASE OF UVEODERMATOLOGICAL SYNDROME IN A HUSKY DOG: A CLINICAL REPORT**

**HUSKY IRKI BİR KÖPEKTE UVEADERMATOLOJİK SENDROM OLGUSU**

**Eser ÇAKMAKÇI<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Öğretim Görevlisi, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye.*

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5784-6291>

**Gaye DEĞİRMENÇİ<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>*Veteriner Hekim, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye.*

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2860-2364>

**Songül ERDOĞAN<sup>3</sup>**

<sup>3</sup>*Doçent Doktor, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye.*

<sup>3</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7833-5519>

**Ali BELGE<sup>4</sup>**

<sup>4</sup>*Profesör Doktor, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye.*

<sup>4</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3346-6926>

**ABSTRACT**

**Introduction:** Uveodermatological syndrome (Vogt-Koyanagi-Harada Syndrome), is a disease that is characterized by anterior uveitis, chorioretinitis, poliosis and vitiligo, commonly seen in dogs. Unlike in humans, there are no neurological symptoms in dogs. The highest incidence of the disease is seen in Akita breeds. The cause is still not fully known, however, it is known to be an autoimmune disease that targets melanocytes and it is a genetic disorder. In this observation, we present a case of uveodermatological syndrome in a Husky dog.

**Materials and Methods:** As material, a 1.5-year-old, male, 19 kg Husky dog was subjected. The owner reported abnormal tear discharge, holding eyelids closed and vision loss. In general clinical examination, the dog was good. Eye examination revealed weak pupillary light reflex and palpebral reflexes in both eyes. Facial symmetry, significant blepharospasm and muco-purulent discharge were observed in both eyes. Schirmer tear test I results were 18mm in the right eye and 15mm in the left eye. Fluorescein staining was negative. Direct ophthalmoscopy and fundus examination were not possible due to the partial corneal opacity and aqueous haze in both eyes. Ultrasound images revealed a retinal detachment in the left eye. The right eye's ultrasound images were normal. Complete blood count, biochemistry, Leishmania rapid test kit and Snap 4DX (Ehrlichia, Lyme, Anaplasmosis, Dirofilaria immitis) tests were performed. Rapid test results were negative and blood test results were normal. Dermatological examination revealed limited hair loss in the tail and back regions.

The underlying problem was thought to be hereditary and autoimmune. Symptomatic treatment was initiated. Medically, topical antibiotics (moxifloxacin), artificial tears (carbomer), eye antiseptic (3% boric acid), topical corticosteroid (dexamethasone), systemic corticosteroid (methylprednisolone), systemic antibiotics (trimethoprim and sulfamethoxazole), immunosuppressant (azathioprine), H2 receptor antagonist (famotidine) and cyclosporine (Restasis) at 3-week intervals. During the second visit for control, it was determined that there was a loss of pupillary and palpebral reflexes in both eyes.

Additionally, due to the measurement of high intraocular pressure (32mmHg) in the right eye, carbonic anhydrase and beta-blocker (dorzolamide, timolol) eye drops were added to the treatment. For the dermatological changes, Venatura vitamin D3 K2, probest defense, dipeptiven, and slymarin curcumin were recommended.

**Conclusion:** As a result of the medical treatment, the dermatological problems improved, the ocular symptoms regressed, but there was no improvement in vision. The case is still under control and continues to be monitored.

**Keywords:** Uveodermatological syndrome, dog, husky, medical treatment.

## 1. INTRODUCTION

Uveodermatological syndrome (UDS), first described in 1977 in two Akita dogs; is an autoimmune inflammatory disease that targets melanin or a melanocytic protein component in the eyes, skin, and mucous membranes (Carter et al., 2005; Eröksüz and Dubielzig, 2014). Canine uveodermatological syndrome; It is also called VKH-like syndrome because it morphologically looks like a human syndrome known as Vogt-Koyanagi-Harada (VKH) syndrome. However, there are some differences in clinical presentation in terms of the multisystemic involvement (Eröksüz & Dubielzig, 2014). Meningeal and auditory involvement has not been reported in dogs as seen in humans (Cottell and Barnett, 1987).

The cause of the uveodermatologic syndrome is unknown, but an immune-mediated etiology is suspected, with severe inflammatory infiltrates and loss of melanocytes in affected tissues (Zarfoss et al., 2018). Breeds that are susceptible to UVD in dogs include Akitas, Samoyeds, and Siberian Huskies. However, this syndrome has also been reported in other breeds (Tham et al., 2019).

UDS in dogs is predominantly diagnosed by considering the risk factor of the breed (most commonly in Akita and Siberian Husky) as well as clinical signs such as pigment distribution in the anterior chamber of the eye, bilateral panuveitis and retinal detachment (Zarfoss et al., 2018). Syndrome is histologically characterized by the non-necrotic granulomatous uveitis causing bilateral thickening of the uvea, diffuse melanin pigment, bilateral involvement, and relative absence of inflammatory changes in the retina. The diagnosis of the chronic form of VKH is based on lymphoplasmacytic uveitis, the presence of melanin-containing macrophages, pigment aggregation, pigment incontinence, depigmentation of epithelial cells, and bilateral involvement of the eyes (Eröksüz and Dubielzig, 2014).

The differential diagnosis of UDS includes anterior uveitis, neoplasia, trauma, infection (for example: viral hepatitis, brucellosis, systemic fungal, protozoal, rickettsial or parasitic disease) and idiopathic causes (Pye, 2009).

In the presented case, it is aimed to share the clinical follow-up of a case of UVD syndrome encountered in a Husky dog.

## 2. CASE REPORT

The case was composed of a 1.5-year-old male Siberian Husky breed dog weighing 19 kg, who was brought to Adnan Menderes University Animal Hospital Surgery Department with the complaints of tear discharge, drooping eyelids and vision loss.

In the physical examination of the animal, it was observed that the physiological parameters (body temperature, respiration and heart rate, pulse rhythm) were normal and the general health status was good.

On eye examination, pupillary light reflex and palpebral reflexes were weak in both eyes. The face was symmetrical, there was marked blepharospasm and mucopurulent discharge in both eyes (Figure 1). Schirmer tear test I results were measured as 18 mmHg in the right eye and 15 mmHg in the left eye. The amount of tears (reference range: 14–24 mmHg) was within normal limits in both eyes. Fluorescein dye uptake was negative. Direct ophthalmoscopy and fundus examination could not be performed in both eyes because of partial corneal opacification and aqueous turbidity. In the examination with the slit lamp, lens luxation was observed on the left eye (Figure 2). While retinal detachment and lens luxation were detected on the left eye in the USG images, the right eye were normal (Figure 3). Complete blood

count, biochemistry, Leishmania rapid test kit and Snap 4DX (Ehrlichia, Lyme, Anaplasmosis, Dirofilaria immitis) tests were performed. The result of the rapid test kits was negative and blood test results was normal.

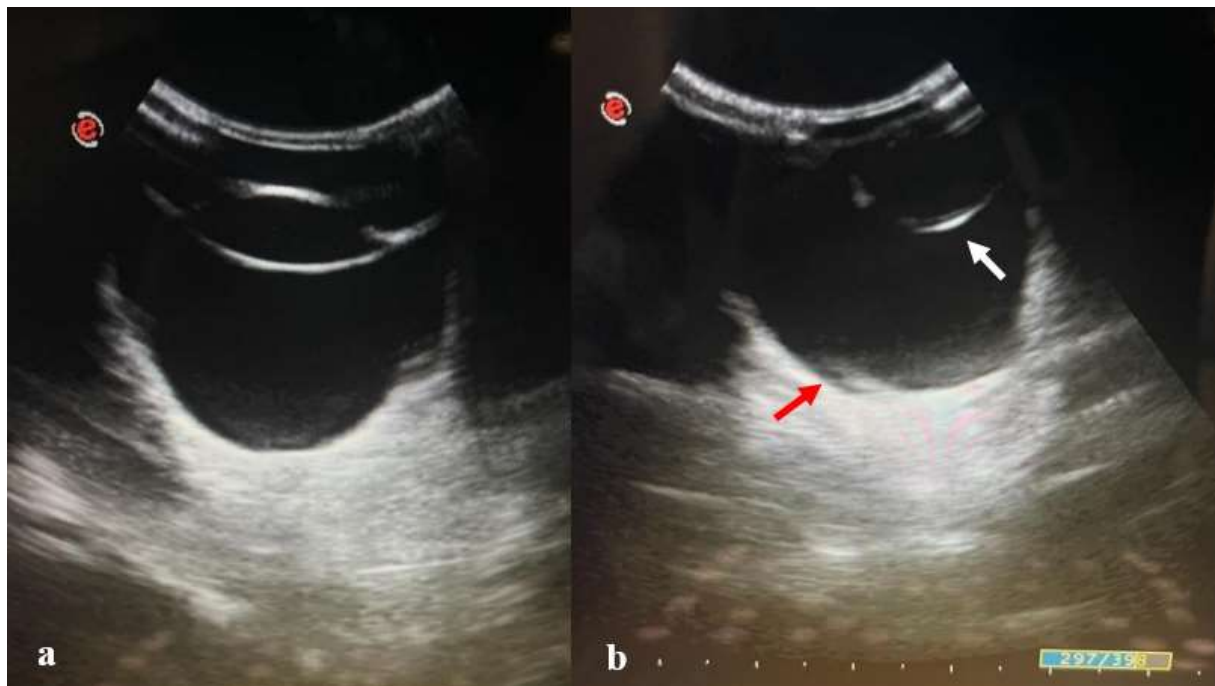
While there was no dermatological problem in the first examination, limited hair loss was observed in the tail, back and tuber ischii regions after about 2 months (Figure 4).



**Figure 1.** Significant blepharospasm and mucopurulent discharge in both eyes.



**Figure 2.** Dorsal lens luxation in the left eye during examination with a slit lamp.



**Figure 3.** Ultrasonographic image of the right eye (a), ultrasonographic image of the left eye (b). (Image b shows retinal detachment (red arrow) and lens luxation (white arrow)).



**Figure 4.** Dermatological symptoms characterized by hair loss in Tuber ischii region (red arrow), back (white arrow) and tail (black arrow).

The dog had no history of recent vaccination, trauma, systemic disease, or drug therapy prior to the onset of the ophthalmic problems. As a result of the examinations, the underlying problem was thought to be hereditary and autoimmune. He was treated symptomatically. Medically, anti-inflammatory and immunosuppressive treatment with the local and systemic application was planned in order to reduce inflammation and protect vision as much as possible. Topical ophthalmic antibiotic (moxifloxacin) every 4 hours, artificial tears (carbomer) every 6 hours, eye antiseptic (3% boric acid) every 12 hours, cyclosporine (restasis) every 8 hours, topical ophthalmic corticosteroid (dexamethasone) every 6 hours were applied locally. Systemically; corticosteroid (methylprednisolone, 5mg/kg, PO), antibacterial (Bactrim 400/80 mg, 1 tablet, PO, every 12 hours), immunosuppressive (azathioprine, 1 mg/kg, PO), H2 receptor antagonist (famotidine, 1mg/ kg, PO) was administered.

The patient, who was checked for 3 weeks, was found to have loss of pupillary and palpebral reflexes in both eyes at the second control examination. At the same time, since the intraocular pressure in the right eye was measured at 32mmHg (reference range: 15–25 mmHg), carbonic anhydrase and beta blocker (dorzolomide, timolol) eye drops were added to the treatment to be used every 12 hours.

When dermatological changes are seen, enalapril maleate at a dose of 1mg/kg for 1 month, Venatura vitamin D3 K2 as 6 drops per day for the first week, 6 drops every 2 days for the next week, for 2 weeks, probest defense 1 capsule per day for 20 days, dipeptiven per day 10 ml for 10 days, slymarin curcumin 1 capsule per day for 1 month was recommended.

### 3. DISCUSSION

The course of uveadermatologic syndrome disease is similar to that of Vogt-Koyanagi-Harada (VKH) syndrome in humans, which is a T-lymphocyte-mediated, autoimmune process in which lymphocytes attack melanocyte cells (Blackwood et al., 2011). In the anamnesis and clinical examination of the patient, no relationship could be established with the factors that are among the underlying causes. Therefore, it was concluded that the process is of autoimmune origin.

Data about the disease in dogs have been extracted from the human literature on VKH. Vogt-Koyanagi-Harada reported that the disease in humans is more common in women than in men. In veterinary medicine, no correlation was found between the sex of the animal and its incidence. The age of onset of the disease is between 6 months and 6 years (Morgan, 1989; Herrera and Duchene, 1998; Laus et al., 2004; Pye, 2009). In the presented case, the material was a male, 1.5-year-old dog. The age range of the dog was within the specified limits.

The highest incidence of the disease is seen in the Akita breed with a high rate of 80% (Angles et al., 2005). The syndrome is not generally seen in cross breed dogs, but is seen as an immune-mediated disease with a high rate in purebreds (Pye, 2009). The material created a pedigreed purebred dog of the Husky breed.

Although the cause of the uveadermatological syndrome is still unknown, it is thought to be caused by an immune-mediated attack against the body's melanocytes (Zavros et al., 2001; Pye, 2009). No abnormality was detected in the clinical and radiological examinations. Hemogram, serum biochemistry and urine analyses were within the normal limits. Initially, intraocular pressure values and Schirmer tear tests were normal. Fluorescein dye uptake was negative.

Usually, ocular findings are seen first, and then dermatological findings such as skin depigmentation on the nasal planum, mucocutaneous and perianal regions, scrotum and paws appear. In addition, depigmentation or alopecia can be seen in the skin and hair (Pye, 2009). The uveadermatologic syndrome usually begins with chronic, recurrent bilateral uveitis. Other clinical signs include decreased or absent pupillary light reflex, blepharospasm, photophobia, hyphema, chorioretinitis and retinal detachment (Pye 2009; Laus others, 2018). It is also emphasized that the disease can only occur with skin or eye problems (Sigle et al., 2006). It was stated that the first symptoms of the disease started in the eye. Lacrimal discharge, narrowing of the gap between the eyelids, redness and sudden loss of vision were reported as the first findings. There was no abnormality in facial appearance. On eye examination, palpebral and pupillary light reflexes were weak. There was a mucopurulent tear discharge.

There are no obvious criteria for the diagnosis of uveadermatologic syndrome. Diagnosis is usually based on the clinical signs and skin biopsy results. In the diagnosis, a number of methods are used to rule out serious risk factors and causes of uveitis that may occur in the presence of systemic diseases. For this purpose, in cases where examination of the ocular internal structures is difficult, a comprehensive physical examination, complete blood count, urinalysis, test kits for common infectious diseases, chest and abdominal radiography, and abdominal and ocular ultrasound examinations are performed (Sigle et al., 2011). There was no negativity in the general physical examination of the patient. Abdominal and chest radiographs were normal. Since the cornea and the base of the eye were not transparent, USG examination was performed. Lens luxation and retinal detachment developed in the left eye. Hematological and biochemical parameters in the blood samples taken were within normal limits. No disease was detected in the rapid test kit analyses for infectious diseases.

Histiocytic lichenoid dermatitis with pigment deficiency in keratinocytes is common in skin biopsy histologically. There may also be pathological melanin accumulation in the tissue. Melanophages may also be found within the dermis, and a lympho-mononuclear infiltrate may be seen in lymphocytes as the predominant cell type. Rarely, plasma cells are also seen (Laus et al., 2004; Pye, 2009). Carter et al (2005) state that T lymphocytes and macrophages are predominant in skin lesions, and B lymphocytes and macrophages are dominant in eye lesions. Skin lesions were seen approximately 2 months after the diagnosis of the disease. A biopsy was not taken.

The primary treatment in the uveadermatologic syndrome is for vision loss. Dermatological manifestations are mostly cosmetic. Systemic corticosteroid 1–3 mg/kg, PO, every 12–24 hours at an induction dose is administered to each dog as an immunosuppressant (Pye, 2009). Topical corticosteroids are also given in all cases. These will reduce inflammation in the eye and suppress the autoimmune response (Kern et al., 1985). It has also been reported that the conjunctival use of some drugs can reduce the signs of infection in the eye. According to studies, conjunctival applications should be made as a single application, and drugs that can be used in this application include dexamethasone (1-2 mg), triamcinolone (10-20 mg) and depot betamethasone (6 mg). Mydriatic, 1% atropine ophthalmic solution can be applied topically to the eye every 6 to 24 hours to dilate the pupil and prevent synechiae. Both topical and systemic steroids should be continued until clinical symptoms resolve (Pye, 2009). At the same time, topical and systemic immunosuppressive drugs will control inflammation; it will improve prognosis in both ocular and skin lesions (Cătoi et al., 2007). In parallel with the literature, treatment with topical and systemic corticosteroids was initiated. In addition, topical antibiotics, artificial tears, antiseptics and immunosuppressives were used for local changes in the eye. Local symptoms were brought under control after a while. However, there was no improvement in retinal detachment and vision loss. However, the owner of the patient stated that he could detect very close objects.

The overall prognosis in UDS is poor. Uveitis may recur, and permanent blindness may be seen due to retinal detachment or post-inflammatory cataract and retinal degeneration. Even if aggressive treatment



is applied, the situation may not be brought under control. In patients whose inflammation is under control, vision can be preserved and dermatological problems can be eliminated and their old appearance can be restored (Cătoi et al., 2007). In some cases, sequelae such as secondary glaucoma, cataract, blindness or skin depigmentation due to inflammatory causes that block the iridocorneal angle in the eye may become permanent even after the clinical symptoms improve (Pye, 2009). The disease started with uveitis and continued with skin problems. As a result of the treatment applied, permanent blindness developed in the left eye due to retinal detachment and lens luxation. Skin problems disappeared.

#### 4. CONCLUSION

In conclusion; In the presented case, the development process of the disease followed a parallel course to those in the literature. The disease appeared with eye symptoms, followed by skin interactions. Aggressive treatment has taken skin problems under control. Despite of the owner's expression that the dog can see near objects, the treatment were not effective on the vision. It was thought that this was due to the early emergence of eye lesions, the ineffectiveness of the treatment applied on external clinics, and that eye lesions started with retinal detachment.

#### 5. REFERENCES

- Angles, J. M., Famula, T. R., & Pedersen, N. C. (2005). Uveodermatologic (VKH-like) syndrome in American Akita dogs is associated with an increased frequency of DQA1\*00201. *Tissue Antigens*, 66(6), 656-665.
- Blackwood, S. E., Barrie, K. P., Plummer, C. E., Taylor, D., Nunnery, C. M., Seltzer, J. D., . . . Brooks, D. E. (2011). Uveodermatologic Syndrome in a Rat Terrier. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 47(4), e56-e63.
- Carter, W. J., Crispin, S. M., Gould, D. J., & Day, M. J. (2005). An immunohistochemical study of uveodermatologic syndrome in two Japanese Akita dogs. *Veterinary ophthalmology*, 8(1), 17-24.
- Cătoi, C., Zotescu, M., Baba, A. I., Gal, A., & Rus, I. V. (2007). Vogt-Koyanagi-Harada-like syndrome in a German shepherd dog. *Bulletin USAMV-CN*, 64, 83-87.
- Cottell, B. D., & Barnett, K. C. (1987). Harada's disease in the Japanese. *Journal of Small Animal Practice*, 517-521.
- Eröksüz, Y., & Dubielzig, R. R. (2014). Novel of chronic phase of Canine Uveodermatologic Syndrome (Vogt-Koyanagi-Harada-like syndrome). *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 61(3), 167-172.
- Herrera, H. D., & Duchene, A. G. (1998). Uveodermatological syndrome (Vogt-Koyanagi-Harada-like syndrome) with generalized depigmentation in a Dachshund. *Veterinary Ophthalmology*, 1(1), 47-51.
- Kern, T. J., Walton, D. K., Riis, R. C., Manning, T. O., Laratta, L. J., & Dziezyc, J. (1985). Uveitis associated with poliosis and vitiligo in six dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 187(4), 408-414.
- Laus, J. L., Sousa, M. G., Cabral, V. P., Mamede, F. V., & Tinucci-Costa, M. (2004). Uveodermatologic syndrome in a Brazilian Fila dog. *Veterinary ophthalmology*, 7(3), 193-196.
- Morgan, R. V. (1989). Vogt-Koyanagi-Harada syndrome in humans and dogs . *The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian (USA)*.
- Pye, C. C. (2009). Uveodermatologic syndrome in an Akita. *The Canadian Veterinary Journal*, 50(8), 861.
- Sigle, K. J., McLellan, G. J., Haynes, J. S., Myers, R. K., & Betts, D. M. (2006). Unilateral uveitis in a dog with uveodermatologic syndrome. *American Veterinary Medical Association*, 543-548.
- Tham, H. L., Linder, K. E., & Olivry, T. (2019). Autoimmune diseases affecting skin melanocytes in dogs, cats and horses: vitiligo and the uveodermatological syndrome: a comprehensive review. *BMC veterinary research*, 15(1), 1-17.

Zarfoss, M. K., Tusler, C. A., Kass, P. H., Montgomery, K., Lim, C. C., Mowat, F., & Thomasy, S. M. (2018). Clinical findings and outcomes for dogs with uveodermatologic syndrome. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 252(10), 1263-1271.

Zavros, N. S., Saridomichelakis, M. N., Koutinas, A. F., & Komnenou, A. (2001). Uveodermatologic syndrome in an Akita dog. *Australian Veterinary Practitioner*, 31(1).

**CASE OF KERATOMALACIA IN A CHINCHILLA BREED CAT AND ITS MEDICAL  
TREATMENT**

**CHINCHILLA IRKI BİR KEDİDE KERATOMALAZİ OLGUSU VE MEDİKAL  
SAĞALTIMI**

**Eser ÇAKMAKÇI<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Öğretim Görevlisi, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı,  
Aydın, Türkiye.*

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5784-6291>

**Ceyda ÇAKAR<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>*Veteriner Hekim, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı,  
Aydın, Türkiye.*

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1057-1523>

**Fatma YİĞİT GÖK<sup>3</sup>**

<sup>3</sup>*Veteriner Hekim, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı,  
Aydın, Türkiye.*

<sup>3</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1755-5996>

**Gaye DEĞİRMENÇİ<sup>4</sup>**

<sup>4</sup>*Veteriner Hekim, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı,  
Aydın, Türkiye.*

<sup>4</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2860-2364>

**Ali BELGE<sup>5</sup>**

<sup>5</sup>*Profesör Doktor, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı,  
Aydın, Türkiye.*

<sup>5</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3346-6926>

**ABSTRACT**

**Introduction:** In the repair of corneal injuries, proteases and collagenases are released. In some cases, the secretion can become excessive and can cause rapid deterioration of the corneal stroma. This is called keratomalacia. Untreated keratomalacia can quickly lead to corneal perforation. In the case presented, a keratomalacia case that developed as a complication of a corneal ulcer was treated medically.

**Material and Method:** The material was a 4-year-old male Chinchilla breed cat. The cat was treated for a superficial corneal ulcer at an veterinary clinic. Nonsteroidal anti-inflammatory, topical antibiotic and artificial tears were used in the treatment. Approximately two weeks later, the cat was referred to the hospital due to symptoms of excessive tear flow and keeping the eyelids completely closed. The cat was in good general clinical examination. Pupil light reflexes and palpebral reflexes were normal in both eyes. Despite corneal opacity in the right eye, there was no loss of vision in both eyes. The face was symmetrical, there was significant blepharospasm in the right eye, Schirmer tear test I measurement results were 15mm/min for the right eye and 14mm/min for the left eye. Direct ophthalmoscopy of the deep structures in the right eye was not possible due to the size of the corneal opacity. There was a significant mucopurulent discharge. The conjunctiva was hyperemic and edematous. A white, gelatinous structure in the central part of the cornea caught attention. Fluorescein staining was performed. A superficial keratectomy was performed on the gelatinous part of the cornea and tarsorrhaphy was applied

for two weeks to close the eyelids. Topical antibiotic (ciprofloxacin), acetylcysteine and hyaluronic acid were used in medical treatment. 2 weeks later tarsorrhaphy was opened, fluorescein staining was performed, very little stain was observed, one week later fluorescein dye was repeated. No dye staining was observed, to the treatment protocol was supplemented with corticosteroid (prednisolone acetate). By the end of the sixth week, the malacic corneal ulcer had completely healed.

**Conclusion:** In the case presented, keratomalazic corneal ulcer responded alone to medical treatment. Here, the patient's temperament, the patient's owner's compliance, and the treatment model applied were effective.

**Keywords:** cat, corneal ulcer, keratomalacia, medical treatment.

## 1. INTRODUCTION

Corneal ulcers are commonly encountered in cats, with the causes including feline herpes virus, trauma, decreased tear production, and foreign bodies (Chow & Westermeyer, 2016; Demir et al., 2020; Dulaurent et al., 2014). Superficial corneal ulcers heal quickly, but in the presence of bacterial infection and proteases and collagenases, loss of corneal stroma can occur. Proteases and collagenases are also released during corneal repair, but in severe cases of corneal ulceration, excessive release can lead to rapid deterioration of the corneal stroma. Stromal ulceration develops, and the stroma quickly liquefies and gelatinizes, a condition known as keratomalacia (Dulaurent et al., 2014; Famose, 2015; Hartley, 2021; Tsvetanova et al., 2021). If left untreated, keratomalacia can rapidly lead to corneal perforation. Corneal ulcers that progress to involve the stroma can lead to vision loss and typically occur in the presence of bacterial infection and proteases and collagenases (Martin de Bustamante et al., 2019; Pumphrey et al., 2011).

Aggressive medical treatment consisting of effective topical antibacterial drugs, topical or systemic matrix metalloproteinase inhibitors, and cycloplegics may be sufficient as long as the integrity of the bulbus oculi is not compromised. If there is a risk of perforation, surgical intervention may be preferred to prevent loss of vision (Bussieres et al., 2004; Chow & Westermeyer, 2016; Demir et al., 2020; Dulaurent et al., 2014; Famose, 2015; Gouille, 2012; Tsvetanova et al., 2021).

While melting corneal ulcers may respond to medical treatment, stromal breakdown can be progressive in some cases. Therefore, surgical intervention is necessary to prevent corneal perforation. Surgical options include keratectomy, conjunctival flap, third eyelid flap, amniotic membrane graft, biomaterial graft, conjunctival graft, and corneal transplantation (Maini et al., 2020; Pumphrey et al., 2011; Soontornvipart et al., 2003; Vanore et al., 2007).

During the repair of corneal injuries, proteases and collagenases are released. In some cases, excessive secretion can lead to rapid deterioration of the corneal stroma, a condition known as keratomalacia. If left untreated, keratomalacia can rapidly lead to corneal perforation. This case report focuses on the medical management of keratomalacia that developed as a complication of corneal ulcer.

## 2. CASE REPORT

The material of this case report is a 4-year-old male Chinchilla breed cat. Previously, the cat had been treated for superficial corneal ulcer at a clinic using nonsteroidal anti-inflammatory drugs, topical antibiotics, and artificial tears. However, approximately two weeks later, the cat was referred to the hospital due to excessive tearing, signs of complete eyelid closure, changes in eye color, and jelly-like mucoid discharge. Upon general clinical examination, the cat was found to be healthy with normal respiratory rate, heart rate, and body temperature. Both eyes showed normal pupillary light reflex and palpebral reflex. Although the right eye had corneal opacification, there was no loss of vision in either eye. The right eye had obvious blepharospasm, and the entire corneal surface outside the perilimbal edge was opaque and edematous. A bulla in the central cornea and minimal limbic vascularization were observed using slit lamp examination. Direct ophthalmoscopy of the fundus of the right eye was not possible due to the size of the corneal opacity (Figure 1). Schirmer tear test I results were measured at 15mm/min for the right eye and 14mm/min for the left eye.



**Figure 1.** Muco-gelatinous appearance of the cornea on the keratomalastic right eye.

The conjunctiva was hyperemic and edematous, and a white jelly-like structure was observed in the central part of the cornea. Fluorescein staining was performed, and a superficial keratectomy was performed on the jelly-like part of the cornea. The eyelids were closed using tarsorrhaphy for two weeks. Medical treatment included topical antibiotic (ciprofloxacin), acetylcysteine, and hyaluronic acid. After two weeks, tarsorrhaphy was opened (Figure 2), and fluorescein staining was performed, revealing only minimal staining.



**Figure 2.** Appearance of the cornea after the tarsorrhaphy removal, no fluorescein dye uptake.

One week later, fluorescein staining was repeated, and no staining was observed. Corticosteroid (prednisolone acetate) was added to the treatment protocol, and by the end of the sixth week, the malacic corneal ulcer had completely healed (Figure 3). Elizabethan collar was used throughout the treatment period.



**Figure 3.** Appearance of the cornea after the 6 weeks treatment, mild opacity, cornea regains its transparency.

### 3. DISCUSSION

Corneal ulcer is a common condition in domestic animals. Simple, uncomplicated ulcers can heal rapidly with medical treatment consisting of topical antibiotics and cycloplegics (Chow & Westermeyer, 2016; Famose, 2015; Hartley, 2021). In the presented case, a superficial corneal ulcer diagnosis was made in the cat and treated with non-steroidal anti-inflammatory drugs and local antibiotics. However, due to lack of progress in the treatment, the cat was referred to the hospital.

Collagenases and proteases normally exist in a delicate balance with endogenous tissue inhibitors in the tear film and cornea, and are necessary for the normal homeostasis of the ocular surface. Imbalance of these enzymes with their inhibitors can lead to excessive collagen degradation and corneal damage (Martin de Bustamante et al., 2019; Pumphrey et al., 2011). During the course of corneal ulceration, endogenous proteinases or matrix metalloproteinases (MMPs) induced by infection can lead to damage of the corneal stroma. In such cases, aggressive medical treatment consisting of effective topical antibacterial drugs against the offending bacteria, topical or systemic matrix metalloproteinase inhibitors, and cycloplegics is indicated, as long as the integrity of the bulbus oculi is not compromised (Famose, 2015; Gouille, 2012; Hartley, 2010; Tsvetanova et al., 2021). In the presented case, the development of stromal melting and bullae in the central cornea during the second week in the cat suggested a dominance of proteinases and stromal damage, although there was no severe corneal destruction or risk of perforation.

Pre-existing ocular surface comorbidities, such as keratoconjunctivitis sicca, neurotrophic keratitis, exposure keratitis due to lagophthalmos, and bacterial or fungal keratitis, can increase the risk of corneal melting (Demir et al., 2020; Dulaurent et al., 2014; Hartley, 2010; Hartley, 2021). Since the cat had been periodically taken to the veterinary clinic for check-ups, it was assumed that there was no comorbidity or ocular surface disorder predisposing it to the disease.

Surgical debridement of necrotic corneal tissue may be appropriate and debulking enzyme-rich malacic tissue can help stabilize the malacic region. In some cases, the degree of corneal tissue loss is significant

and tectonic support may be necessary (Hartley, 2021; Maini et al., 2020; Pumphrey et al., 2011). In the presented case, superficial debridement was performed in the form of a line keratectomy for malacic bulla in the center of the cornea. The mucoid-jelly-like structure was removed and the procedure was supported medically.

Corneal stromal loss typically occurs in the presence of bacterial infection and proteases and collagenases. It is usually associated with reflex anterior uveitis. Therefore, in the treatment of deep ulcerative keratitis, antibiotics, cycloplegics, and protease inhibitors are used (Demir et al., 2020; Hartley, 2010; Martin de Bustamante et al., 2019; Tsvetanova et al., 2021). In the presented case, topical antibiotic (ciprofloxacin), acetylcysteine, and hyaluronic acid were applied in addition to medical treatment. Within a short time, it was observed that the corneal surface began to flatten and take on its normal shape.

In cases of corneal ulcers affecting more than 50% of corneal thickness, surgical techniques supported by conjunctival grafts or flaps, keratoplasty, and biomaterials in addition to medical treatment are recommended (Bussieres et al., 2004; Demir et al., 2020; Pumphrey et al., 2011; Vanore et al., 2007). In the presented case, tarsorrhaphy was applied by closing the upper and lower eyelids for two weeks in addition to medical treatment. An aggressive surgical approach was not considered. At the end of the second week, when the tarsorrhaphy sutures were removed, it was seen that the cornea had recovered quite well.

Goulle (2012) applied thin intestinal serosa in the treatment of keratomalacia in a total of 42 dogs and 7 cats. In dogs, at the 3rd month control, he reported mild scar formation in one, marked scar formation, pale pigmentation, and mild pigmentation in 11 (26%) of them. Complications in the form of sequestrum formation developed in one of the cats. There was no negative effect on the corneal surface integrity in the case. Opacification of the cornea continued until the topical use of the cortisone and started to regress with the cortisone usage. There was no negative impact on visual health.

In conclusion, in the presented case, keratomalacic corneal ulcer responded to medical treatment alone. Here, the patient's temperament, compliance of the patient's owner, and the applied treatment model were effective.

#### 4. REFERENCES

- Bussieres, M., Krohne, S. G., Stiles, J., & Townsend, W. M. (2004). The use of porcine small intestinal submucosa for the repair of full-thickness corneal defects in dogs, cats and horses. *Veterinary Ophthalmology*, 7(5), 352-359.
- Chow, D. W., & Westermeyer, H. D. (2016). Retrospective evaluation of corneal reconstruction using AC ell Vet™ alone in dogs and cats: 82 cases. *Veterinary ophthalmology*, 19(5), 357-366.
- Demir, A., Altundağ, Y., & Karagözoğlu, G. S. (2020). Surgical management of infectious and noninfectious melting corneal ulcers in cats. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 44(4), 934-944.
- Dulaurent, T., Azoulay, T., Goulle, F., Dulaurent, A., Mentek, M., Peiffer, R. L., & Isard, P. F. (2014). Use of bovine pericardium (Tutopatch®) graft for surgical repair of deep melting corneal ulcers in dogs and corneal sequestra in cats. *Veterinary ophthalmology*, 17(2), 91-99.
- Famose, F. (2015). Evaluation of accelerated collagen cross-linking for the treatment of melting keratitis in ten cats. *Veterinary ophthalmology*, 18(2), 95-104.
- Goulle, F. (2012). Use of porcine small intestinal submucosa for corneal reconstruction in dogs and cats: 106 cases. *Journal of Small Animal Practice* 53, 34-43
- Hartley, C. (2010). Treatment of corneal ulcers: what are the medical options?. *Journal of feline medicine and surgery*, 12(5), 384-397.
- Hartley, C. (2021). Outcomes of treatments for keratomalacia in dogs and cats: a systematic review of the published literature including non-randomised controlled and non-controlled studies. *Journal of Small Animal Practice*, 62(10), 840-849.

Maini, S., Hurley-Bennett, K., & Dawson, C. (2020). Case series describing the use of low-temperature vacuum-dehydrated amnion (Omnigen) for the treatment of corneal ulcers in cats and dogs: 46 cases (2016-2017). *Topics in Companion Animal Medicine*, 41, 100474.

Martin de Bustamante, M. G., Good, K. L., Leonard, B. C., Hollingsworth, S. R., Edwards, S. G., Knickelbein, K. E., ... & Maggs, D. J. (2019). Medical management of deep ulcerative keratitis in cats: 13 cases. *Journal of feline medicine and surgery*, 21(4), 387-393.

Pumphrey, S. A., Pizzirani, S., & Pirie, C. G. (2011). 360-degree conjunctival grafting for management of diffuse keratomalacia in a dog. *Veterinary ophthalmology*, 14(3), 209-213.

Soontornvipart, K., Tuntivanich, N., Kecova, H., & Raušer, P. (2003). Conjunctival pedicle graft in dogs and cats: a retrospective study of 88 cases. *Acta Veterinaria Brno*, 72(1), 63-69.

Tsvetanova, A., Powell, R. M., Tsvetanov, K. A., Smith, K. M., & Gould, D. J. (2021). Melting corneal ulcers (keratomalacia) in dogs: a 5-year clinical and microbiological study (2014–2018). *Veterinary Ophthalmology*, 24(3), 265-278.

Vanore, M., Chahory, S., Payen, G., & Clerc, B. (2007). Surgical repair of deep melting ulcers with porcine small intestinal submucosa (SIS) graft in dogs and cats. *Veterinary ophthalmology*, 10(2), 93-99.



**XIX. YÜZYILIN İLK YARISINDA ÖZBEKİSTAN'DA TARIM**  
**THE AGRICULTURE IN UZBEKISTAN AT THE FIRST HALF OF XIX<sup>TH</sup> CENTURY**

*Prof., Dr. Nisbet MEHDİYEVA*

Bakü Devlet Üniversitesi, Tarih fakültesi, Türk halkları tarihi bölümü, Bakü, Azerbaycan

ORCID ID: 0000-0003-0469-0910

**ÖZET**

XVIII. yüzyılın sonu ve XIX. yüzyılın başlarında feodalizm döneminin getirdiği sınırlamalara rağmen, ekonomide belirli bir ilerleme hissedilmekteydi. Bu, göçebelere bir kısmının yerleşik bir yaşam tarzına geçişinde, toprak mülkiyetinin doğasındaki değişimde, sulama sisteminin genişlemesinde, emtia – para ilişkileri ve komşu ülkelerle ekonomik ilişkilerin gelişmesinde kendini gösteriyordu.

Özbekistan'da yerleşik nüfus, göçebe ve yarı göçebe nüfustan daha fazlaydı. XVIII. – XIX. yüzyılın başında göçebe nüfusun çoğu tarıma geçmişti. Ekonominin temeli toprak mülkiyeti, sulama ve pirinç ekimi oluşturmaktaydı. Tarımsal üretim süreci ve tarım aletleri çok az değişmişti. Tahılın ekilmesi, biçilmesi ve harmanlanması el emeğine dayanıyordu. Tarımsal kalkınma alanında Fergana diğer illere göre daha öndeydi.

Fergana, Şahrısabz, Yeni Ürgenc ve Katta – Kurgan başlıca pamuk yetiştirilen bölgeler olarak kabul ediliyordu. Pirinç üretimi Semerkand vilayetinde, Karşı ve Katta – Kurgan'ın tamamında yapılıyordu. Göçebe ve yarı göçebe Özbek kabilelerinin reisleri, topluluk – kabilelere ait topraklara el koymuştur. Araziler aynı zamanda satın alınarak elde ediliyordu. Arazi bağışlama ve satma geleneği devam ediyordu. Feodal beyler, toprakları kendi çocuklarına vererek, aslında onları toprağın kalıtsal sahipleri yapıyorlardı. XIX. yüzyılın 50'li yıllarında Özbekistan'da hayvancılık da vardı.

Özbek tarımında ana vergi türü haraç kabul ediliyordu. Hanlık topraklarının çoğu devlet topraklarıydı. Haraç, işte devlet topraklarından alınan bir vergiydi. Haraçın diğer bir türü de kafsın olarak adlanırdı. Bu tüm tahıl ve pamuğa uygulanan bir vergi türüydü. Ana vergi türlerinden biri zekat – devlet emlak vergisi olmuştur. Zekat, esas olarak tüccarların ülkeye getirdikleri mallardan toplanırdı. Hayvanlara uygulanan zekat aynı olarak alınırdı. Savaş sırasında cul vergisi uygulanırdı. Ülkede vilayetler arasında taşınan hayvan ve yüklere vergi türü olan bac vergisi getirilirdi. Nehirlerde yük taşımacılığı için su parası vergisi toplanırdı. Bahçe ve plantasyon vergisine tanabpulu denilirdi. Tarlalardan alafpulu alınırdı. Her iki vergiye birlikte tanaban veya tanabpulu adı verilmiştir. Çalışan hayvanlar – iki at veya iki öküz için bir batman buğday oranında vergi alınmaktaydı.

**Anahtar kelimeler:** Özbekistan, çiftçilik, hayvancılık, sulama, toprak türleri, vergi

**ABSTRACT**

At the end of XVIII and beginning of XIX<sup>th</sup> centuries in spite of difficulties of the period of feudalism, some achievements have been seen in the economy. It was reflected in the transition of some parts of nomads from nomadic life to the settled one, the changing of character of land property, the enlargement of irrigation system, the development of commodity – money relations and the economic collaborations with neighbor countries.

The settled people were more than nomadic and seminomadic people in Uzbekistan. During XVIII – beginning of XIX<sup>th</sup> centuries the majority of nomads turned into the farmers. The base of economy was consist of the land property, irrigation and rainfed agriculture. The process and implements of production in agriculture have been not quite enough changed. The sowing, harvest and threshing of grain have been based on the manual form of labor. Fergana was more progressive for the development of agriculture than other regions.

Fergana, Shahrisyabz, Yeni Urgench and Katta – Kurgan have been considered as the main regions of cotton – growing. The rice – growing was in Samarkand region, but tobacco – growing was in Karshi and Katta – Kurgan regions. The leaders of nomadic and seminomadic Uzbek tribes borrowed the lands of community – tribes. The lands also have been got through ransom. The tradition of giving lands as presents and selling them also existed. The feudal lords gave the lands to their children and as a result of this changed them to the owners of ancestral lands. During 50 years of XIX<sup>th</sup> century the cattle breeding existed in Uzbekistan too.

The kharaj was the main form of tax of Uzbeks in agriculture. The majority part of lands of khanate was consist of the governmental lands. The kharaj was the tax from governmental lands. One of the parts of kharaj was named as kafsan. This was the tax from all of grain crop and cotton. Another main form of tax was zekat – the governmental property tax. The zekat especially have been collected from the commodity imported by the merchants. The zekat for cattle has been collected in natural form. The tax of jul also existed during the war. The commodity and cargo carried between regions of the country have been belonged to another tax form of baj. The tax of supulu has been collected for cargo by boats in rivers. The tax of gardens was named as tanabpulu. The alafpulu has been collected from the fields. Both of these taxes have been called as tanaban or tanabpulu. The tax for working cattle – two horses or two bulls has been collected in scale of one batman of grain.

**Key words:** Uzbekistan, agriculture, cattle breeding, irrigation, land forms, tax

## 1. GİRİŞ

Tarım ve hayvancılık Özbekistan'da ana ekonomik sektörler olmaya devam ediyordu. O zamanlar Özbekistan bir tarım ülkesiydi. Doğrusu, o dönemde sosyal ve ekonomik oluşum yavaş – yavaş küçük değişikliklere uğramıştır. Ancak bu süreç yeterince kendini göstermedi. Öte yandan, ekonominin - gelişimi diğer alanlara ivme kazandırır. Aynı zamanda, farklı vergi türleri vardı. Sulama sistemi genişliyor, göçebeler yerleşik yaşama geçiyor, çeşitli teknik ürünler – pamuk, tütün, boya vb. ekimi genişleniyordu. Çiftçiler ve zanaatkarlar ürünlerini değiş tokuş ederek tahıl ve kumaş yerine çeşitli hayvan ürünleri satın alıyorlardı. Böyle bir işbölümünün yaratılması, Özbekistan topraklarında emtia – para ilişkilerinin ortaya çıkmasına olanak sağlıyordu. Tarımsal ürünlerin yetiştirilmesine önem veriliyordu. Ancak tarım sektöründe işgücü araçlarını değiştirme süreci yetersiz bir şekilde uygulanmaktaydı. Bahçeler, bağlar ve pamuk tarlalarında sulama ve yabancı ot temizliği ketmen ve küreklerle yapılıyordu. Bütün bunlar tarımın gelişme sürecini etkilemekteydi.

## 2. ÖZBEKİSTAN EKONOMİSİ

XIX. yüzyılın başlarında Özbekler arasında yerleşik yaşama ve tarıma geçiş süreci hâlâ devam etmekteydi. Çeşitli Özbek tayfaları ağırlıklı olarak Kaşgaderya, Surhanderya, Zerefşan, Fergana vadileri ve Harezmi'de yerleşmişlerdi. Artık yüzyılın ortalarında, çoğu yerleşik ya da yarı göçebe bir yaşam tarzı sürüyordu. Tarımda üretim sürecinde kullanılan iş araçları uzun süredir neredeyse hiç değişmemiştir. Öküzlere, ineklere, atlara ve bazen de develere bağlı tahta bir aletle toprağı sürüyorlardı (Şekil 1). Daha sonra bu alet için demir veya dökme demir uçlar kullanılmaya başlandı. Hasat elle yapılıyordu. Tahıl, hayvanlar ile çalıştırılan ve el gücüne dayalı su değirmenlerinde öğütülürdü. Toprak ketmen ile - işleniyordu (История Узбекской ССР 1956, 12, 14).



**Şekil 1. Pamuk tarlasında toprağı sürmek**

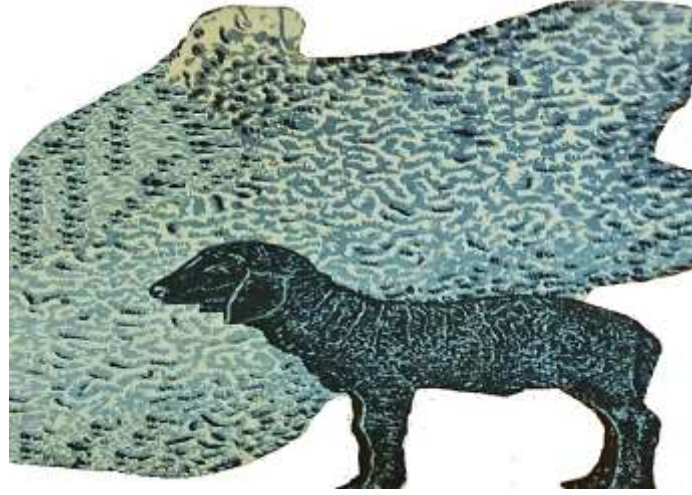
Bu dönemde feodalizm ve halk ayaklanmaları kendini gösteriyordu. Aynı zamanda Buhara, Hive ve Kokand Hanlıkları arasında Orta Asya'da hakimiyet mücadelesi vardı. Buhara Hanlığı, XIX. yüzyılın ilk yarısında tarım ülkesiydi. Nüfus, ağırlıklı olarak tarım alanında çalışır, yerleşik ve göçebe bir yaşam tarzına öncülük eder ve sığır yetiştiriciliği ile uğraşır. Sulama büyük önem arz ediyordu (Узбекская ССР 1981, 90). Özbekistan'da verimli topraklar ve ılıman iklim, yüksek verim sağlıyordu.

Özbekistan da dahil olmak üzere Orta Asya'da, köylülerin toprağı köleleştirilmesi yasal bir bakış açısıyla resmileştirilmemiştir, ancak gerçekte köylüler büyük feodal beyler tarafından sömürülürdü. Toprakların çoğı devlete aitti. Buhara Hanlığı'nda toprak, devlet – mülk, özel mülkiyet – mülk ve din adamları – vakıf arazisi olmak üzere 3 kategoriye ayrılırdı. Bu topraklarda çalışan ve tarım ürünleri üretimiyle uğraşan köylüler, arazinin kullanımı için devlete ve toprak sahibine vergi ödemek zorundaydı. Farklı vergi türleri bulunmaktaydı. Haraç ürünün bir parçası şeklinde ödeniyordu. 19. yüzyılda haracın bir kısmı para olarak ödeniyordu. Tarladan pazara olan mesafeye göre vergi miktarı belirleniyordu. Tanaban – bahçeler ve üzüm bağları, zekat – sığır ve diğere emlak türlerine göre alınıyordu. Vergi tahsilatında da belli bir usulsüzlük vardı. Bu da ekonomiyi olumsuz etkilemekte, finansal ilgiyi zayıflatmakta ve halkın memnuniyetsizliğini artırmaktaydı (Mehdiyeva 2010, 18) (URL 2).

Eskiden olduğu gibi Buhara'da pamukçuluk gelişmişti. Türkistan'da Fergana pamuk yetiştiriciliğinde ilk yerdeydi (Бартольд 1963, 446, 447). Buhara Hanlığı'nda genel olarak çeşitli meyve, sebze, bahçe – kavun bitkileri vb. yetiştirilmekteydi.

1822 – 1842 yıllarında Taşkent vilayetinde tarımsal ürünlerin sulanması için Han-Arık kanalı inşa edilmiştir. 1868 – 1871 yıllarında Fergana'da Uluğnar kanalı inşa edilmiştir. Bu kanalın yapımında üç yıl boyunca 4.000'den fazla kişi çalışmıştır. Bu yapılar tarımın gelişmesinde önemli rol oynamıştır (История Узбекской ССР 1956, 11). Bundan sonra göçebelerin yerleşik hayata geçiş süreci hızlanmıştır. Hanlıkta el sanatları üretimi, özellikle dokumacılık oldukça artmıştır. Bu hem kentsel, hem de kırsal alanlarda kendini göstermeye başlamıştır.

XIX. yüzyılın ilk yarısında göçebe hayvancılık giderek azalmıştır. Bu, öncelikle nüfusun yerleşik yaşam tarzı, otlatma alanlarının sınırlandırılması, iç siyasi çatışmalar vb. sonucunda oluyordu. Ancak - Özbekistan'da hayvancılıkta önde gelen sektör karagül derisi üretimidir (Şekil 2). Buhara Hanlığı'nda karagül derisi üretimi ve satışı alanında elde edilen başarılar, onu dünya pazarına tanıtmayı sağlamıştır. Bu değerli ürünün 4 çeşidi vardı: koyun derisi, yün, et ve süt. İnsanların yaşamında bunlar önemli bir rol almaktaydı. Buhara Hanlığı hakkında kesin bilgilerin olmaması, Özbekistan topraklarındaki karagül koyunlarının sayısını belirlemeye izin vermemektedir (Гречин 1961, 3, 5) (URL 1).



**Şekil 2. Özbekistan karagül koyunu**

Hanlığın temel alanlarından biri zanaatkarlıktır. Bu alan daha çok şehirlerde oluşmuştur. Buna dokuma, çömlekçilik, silah, ev eşyaları yapımı vb. dahildir. Buhara Hanlığı'nda zanaatkarlık ürünleri komşu ülkelere ihraç ediliyordu. Pamuklu, ipekli, kadife kumaşlar, halılar ve deri eşyalar satılıyordu. Özbekistan'da zanaatkarların yaptıkları kumaşlara büyük talep vardı. Bu da daha çok yurt dışına ihraç edilen ürünlerin üretilmesine ve kentlerin gelişmesine yol açan zanaatkarların ortaya çıkmasına neden olmuştur. Buhara'nın Hindistan, İran, Sibirya ve Kaşgar ile ticari ilişkileri bulunmaktaydı. İhraç edilen ürün türü yavaş – yavaş değişmeye başlamıştı. XIX. yüzyılın ilk yarısında Buhara'da zanaatkarlık el emeğine ve uzun zaman sürecinde öğretilen çalışma alışkanlıklarına dayanmaktaydı. Kumaş yapım süreci oldukça basitti. Çoğu köylünün evinde dokuma tezgahı bulmak mümkündü. Elbette ev tekstili ürünleri kaba ve pürüzlüydü. Bu dönemde Çarlık Rusya'sından ithal edilen sanayi malları yerli ürünlerin yerini alıyordu. Ancak XVIII. ve XIX. yüzyılın başlarında bu alanda uzmanlaşmış zanaatkarların yaptığı ürünler, güzellikleri ve sağlıkları ile öne çıkıyordu. Aynı zamanda pazarlarda Rus makine - sanayisinin yaptığı ürünler el yapımı tekstil ürünlerinin rolünü giderek azaltıyordu. Orta Asya'da şehir zanaatları uzun bir oluşum sürecinden geçmiştir. Örneğin bu durum kendisini daha çok dokumacılık ve demircilik alanlarında göstermiştir. Aynı zamanda, zanaatkarlık her şeyden önce ticaretle ilgiliydi. Bu ise tüccarların elindeydi. Tarımda zanaatkarlığın gelişimi Buhara'da daha yaygındır. XIX. yüzyılın başlarında bu bölgede Rusya ile ticaretin gelişmesi, Buhara Hanlığı'nda yeni şehirler ve nüfusun artmasına neden olmuştur. Aynı zamanda pazar sayısında da artış gözlemleniyordu. Hatta bu tür şehirlere Kazakistan'dan da koyunlar getirilirdi. XIX. yüzyılda Katta – Kurgan'da büyük ekmek ve meyve pazarı vardı. İç ticaret göçebe çobanlar, yerleşik çiftçiler, şehirli ve kırsal zanaatkarlar arasındaki işbölümüne dayanıyordu (Узбекская ССР 1981, 90 – 91). Taşkent şehrinde beş pazar vardı. Buhara yakınlarındaki küçük Gijduvan şehrinde bulunan Orta Asya'nın en büyük hayvan pazarına Kazakistan'dan koyun getirilirdi. Dış ticaret ağırlıklı olarak komşu ülkelerle – Rusya, Hindistan, İran, Afganistan vb. ile gerçekleştirilirdi. Yerel zanaat ürünleri, Rusya'dan ithal edilen ucuz fabrika yapımı mallarla rekabet edemedi. XIX. yüzyılın ortalarında Orta Asya, Rusya ile 4 milyon manatlık mal alışverişinde bulunurken oradan ithal edilen ürünlerin toplam değeri 3 milyon manat olmuştur. XIX. yüzyılın başında Rusya'ya ihraç edilen ürünlerin yüzde 75'i pamuk ve pamuk kumaş ürünleriydi. - Rusya'dan Orta Asya'ya ağırlıklı olarak demir, bakır, çelik, dökme demir vb. metal ürünler ithal ediliyordu. Buhara da dahil olmak üzere Orta Asya'da madencilik endüstrisinin zayıf bir şekilde geliştiği doğrudur. Dökme demir ve bakır, küçük zanaatkar bir şekilde eritilir, altın, gümüş vb. çıkarılırdı. Teknik geri kalmışlığın bir sonucu olarak, metal işleme pahalı olması nedeniyle Uralların metalurji fabrikalarından hazır ürünleri satın almak ve getirmek daha ucuz ve kârlıydı. Bu nedenle XIX. yüzyılın ilk yarısında Buhara Hanlığı da dahil olmak üzere Orta Asya'da madencilik sanayisi gelişmemişti. Orta Asya, giderek Rusya için bir hammadde kaynağı haline geliyordu. Aynı zamanda Orta Asya'dan Kazakistan, Volga, Ural ve Sibirya'ya da pamuklu kumaşlar taşınmıştır (Mehdiyeva 2010, 23, 24).

XIX. yüzyılın başlarında Özbekistan ekonomisinin gelişiminin hala feodal toplumun özelliklerini gösterdiğini de belirtmek gerekir. Göçebelerin yerleşik bir hayata – çiftçiliğe geçişi ve kademeli soy – kabile sisteminin çöküşü ilerleyici bir hal idi. Tarım ve zanaatkarlıkta kullanılan iş aletleri bu dönemde

küçük değişikliklere uğramıştır. XIX. yüzyılın başında belirli ekonomik büyüme kendisini gösteriyordu. Emtia üretimi alanındaki gelişmeler kapitalizmin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bütün bunlar Özbekistan'ın gelişmişliğine işaret ediyordu.

Bugün Özbekistan siyasi, ekonomik ve kültürel olarak gelişmiş bir devlettir. O her zaman gelişmektedir ve dünya ekonomisinin gelişmesinde özel bir yere sahiptir.

### SONUÇ

XIX. yüzyılın ilk yarısında Orta Asya ve Kazakistan'da tarım sanayiden daha çok gelişmişti. Bu Özbekistan'da da kendini gösteriyordu. Özbekistan tarım ülkesiydi. Burada tarım, hayvancılık, çeşitli bitki türlerinin geliştirilmesi ve yenilenmesi daha hakimdi. Fergana'da tarım diğer vilayetlere göre daha fazla gelişmiştir. Toprakların çoğu feodal devletlere aitti. Tahıl çoğunlukla su değirmenlerinde öğütülürdü. Buhara, Şehrisabz, Yeni – Urganç ve Katta – Kurgan pamuk yetiştirilen bölgelerdi. Semerkand vilayeti pirinç üretirken (Miankal vadisi), Karşi ve Katta – Kurgan`da ise tütün yetiştiriliyordu. Sulama sisteminin varlığı tarımın gelişmesinde önemli rol oynamıştır. Çeşitli vergi türlerinin ekonomik sektörlerin genel gelişimi üzerinde olumsuz etkisi olmuştur. El emeği tercih ediliyordu. Serflik yönteminin yalnızca tarımın değil, zanaatların da gelişmesi üzerinde etkisi oluyordu. Köylüler yapmış oldukları zanaatkarlık ürünlerini pazarlara getiriyordu. Komşu ülkelerle ticaret genişliyordu. Bu da ekonomik ilişkilerin artmasına neden oluyordu. Bu tür ilişkiler Özbekistan - ekonomisinin gelişmesine yardımcı oluyordu.

### КАЙНАКÇA

1. Бартольд, В.В. (1963), Хлопководство в Средней Азии с исторических времен до прихода русских. Сочинения. Т. II. Ч. 1. Восточная литература, Москва.
2. Гречин, Б.В., Степанова, А.С. (1961), Узбекистанская каракульская овца. Государственное издательство Узбекской ССР, Ташкент.
3. История Узбекской ССР (1956), Т. I. Кн. II. АН Узбекской ССР, Ташкент.
4. Mehdiyeva, N.C. (2010), Türk xalqlarının tarixi. Yeni dövr (XIX – XX əsrin əvvəlləri). Adiloğlu, Bakı.
5. Узбекская ССР. Энциклопедия (1981), Главная редакция Узбекской Советской Энциклопедии, Ташкент.
6. Сельское хозяйство и ирригация. URL 1: <http://vek-noviy.ru/istoyiya-uzbekistana-xvi-xx-veka/hozyaystvennaya-zhizn-buharskogo-emirata.html>. Erişim tarihi: 05.02.2023
7. Система налогов и обязанности. URL 2: <http://vek-noviy.ru/istoyiya-uzbekistana-xvi-xx-veka/hozyaystvennaya-zhizn-buharskogoemirata.html>. Erişim tarihi: 05.02.2023

**MACROSCOPIC and MICROSCOPIC INVESTIGATION OF CANALIS ALIMENTARIUS in  
ABYSSİNİAN MONKEY (PAPIO HAMADRYAS)**

**HABEŞ MAYMUNU'NDA (PAPIO HAMADRYAS)'da CANALİS ALİMENTARIÜS'un  
MAKROSKOBİK ve MİKROSKOBİK İNCELENMESİ**

***Fatma İŞBİLİR***

*Siirt University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Anatomy, Siirt, Turkey.*

*ORCID ID: 0000-0002-6110-1302*

**ABSTRACT**

In recent years, the use of baboons as laboratory animals has increased in conditions such as reproductive and birth problems, endometriosis, obesity, atherosclerosis and common viral diseases. Baboons are the largest old-world monkeys among non-human primates. Their large size is advantageous in that they allow testing of biomedical devices made for humans, such as angioplasty catheters and vascular shunts, without size change. Baboons are divided into six subgroups. Hamadryas baboons (*P. hamadryas*) are distinguished from many other savanna species by features such as social organization and foraging patterns.

The aim of this study is to examine the morphometric and histological structure of canalis alimentarius in *Papio hamadryas* (Abyssinian Monkey). A baboon found dead in Bursa Zoo (dead due to non-working reasons and brought fresh to the laboratory) was used as material in the study. It was known that the baboon, which did not show any known clinical findings, was 1.5 years old, female and *Papio hamadryas* breed. First of all, the anatomical locations of organs were determined topographically. Macroscopically, the features of the esophagus, stomach and intestines such as shape and color were noted. Photographs of organs removed by dissection from body cavities were taken. Morphometric measurements of the parts determined with a digital caliper were made. Tissue samples taken from organs were fixed in a 10% formaldehyde solution. Tissues undergoing routine histological procedures were embedded in paraffin and 5 µm sections were taken. Sections stained with Crosmann's triple staining technique were examined histologically under a light microscope as parts and the results were noted. In this study, macroscopic and microscopic properties of esophagus, stomach, small and large intestine structures were tried to be determined in *Papio Hamadryas*. As a result of the study, it was determined that although the anatomical and histological structure of canalis alimentarius showed slight differences, it was similar to mammalian animals in general structure. The information obtained will contribute to the literature on anatomy and histology, as well as be a source for future research on the subject.

**Keywords:** Baboon, *Papio Hamadryas*, canalis alimentarius morphology and histology.

**ÖZET**

Son yıllarda üreme ve doğum sorunları, endometriozis, obezite, ateroskleroz ve yaygın viral hastalıklar gibi durumlarda babunların laboratuvar hayvanı olarak kullanımı artmıştır. Babunlar, insan olmayan primatlar arasındaki en büyük eski dünya maymunlarıdır. Büyük boyutları, anjiyoplasti kateterleri ve vasküler şantlar gibi insanlar için yapılmış biyomedikal cihazların boyut değişikliği olmadan test edilmesine olanak sağlaması açısından avantaj sağlamaktadır. Babunlar altı alt gruba ayrılmaktadırlar. Hamadryas babunları (*P. Hamadryas*), sosyal organizasyon ve yiyecek arama kalıpları gibi özellikleriyle, diğer birçok savan türünden ayrılmaktadırlar.

Bu çalışmanın amacı *Papio hamadryas*'ta (Habeş Maymunu) canalis alimentarius'un morfometrik ve histolojik yapısını incelemektir. Çalışmada materyal olarak Bursa Hayvanat Bahçesi'nde ölü bulunan (çalışma dışı nedenlerle ölen ve laboratuvara taze getirilen) bir babun kullanıldı. Bilinen herhangi bir klinik bulgu göstermeyen babun'un, 1,5 yaşında, dişi ve *Papio hamadryas* cinsi olduğu bilinmekteydi.

Öncelikle topografik olarak, organların anatomik yerleşimleri belirlendi. Makroskobik olarak özefagus, mide ve bağırsakların şekil, renk gibi özellikleri belirlendi. Vücut boşluklarından diseksiyon ile çıkarılan organların fotoğrafları çekildi. Dijital kumpas ile belirlenen bölümlerin morfometrik ölçümleri yapıldı. Organlardan alınan doku örnekleri %10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Rutin histolojik işlemlerden geçen dokular parafine gömüldü ve 5 µm'lik kesitler alındı. Crossmann'ın üçlü boyama tekniği ile boyanan kesitler, bölümler halinde ayrı ayrı histolojik olarak ışık mikroskopunda incelendi ve sonuçlar not edildi. Bu çalışma ile yemek borusu, mide, ince ve kalın bağırsak yapılarının makroskobik ve mikroskobik özellikleri belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışma sonucunda canalis alimentarius'un anatomik ve histolojik yapısının küçük farklılıklar gösterse de, genel yapı itibarıyla memeli hayvanlara benzediği belirlendi. Elde edilen bilgiler anatomi ve histoloji literatürüne katkı sağlamanın yanı sıra konu ile ilgili ileride yapılacak araştırmalara kaynak oluşturacak niteliktedir.

**Anahtar kelimeler:** Babun, Papio Hamadryas, canalis alimentarius morfolojisi ve histolojisi.

## 1. INTRODUCTION

In recent years, the use of baboons as laboratory animals has increased in conditions such as reproductive and birth problems, endometriosis, obesity, atherosclerosis and common viral diseases (Chege et al., 2005; Clarkson, 1988; Tardif, Carville, Elmore, Williams and Rice, 2012; Wagner, Cann, Zhang and Jr, 2012). Baboons are the largest old-world apes among non-human primates. Their large size provides an advantage in that it allows the testing of biomedical devices made for humans, such as angioplasty catheters and vascular shunts, without size change (Groves, 1989; Rowe, 1996; Skinner and Smithers, 1990). They are omnivorous primates whose diet includes insects and small animals hares, birds and eggs, rodents, and newborn mammals (Altmann, 1991). They have a wide range of colors among their species. They are divided into six subgroups *Papio papio*, *Papio (P.) anubis*, *P. cynocephalus*, *P. ursinus*, *P. kinda* and *P. hamadryas*. Social organization and foraging patterns in *Hamadryas* baboons (*P. hamadryas*) distinguish them from many other savanna species (Groves, 2004; Zinner, Groeneveld, Keller and Roos, 2009).

Many studies have been done on non-human primates. The organs of the respiratory system in *Papio anubis*, digestive system organs in *Theropithecus gelada*, the liver in *Macaca fascicularis*, pancreas in a monkey and kidneys in *Cynomolgus* monkey were examined in anatomical, histological and functional terms (Chivers ve Hladik, 1980; Hladik, Charles- Dominique and Petter, 1980; Maina 1988; Maurya, Kumar and Kumar, 2018; Swindler and Wood, 1973; Szebenyi, 1969; Tsuchitani, Sato and Kokoshima, 2016; Vons et al., 2009). In the literature review, there is no detailed study examining the anatomical and morphometric properties of *Papio hamadryas*' internal organs.

The purpose of this study is to examine the anatomical, histological and morphometric structure of *canalis alimentarius* (esophagus, stomach, small and large intestines) in *Papio hamadryas* (Abyssinian Monkey). The information obtained will contribute to the anatomy and histology literature.

## 2. MATERIAL- METHOD

In the study, a baboon found dead in Bursa Zoo (died of a reason not related to the study and brought fresh) was used as the material in the study. This baboon, which did not show any known clinical finding, was brought to Bursa Uludağ University Faculty of Veterinary Medicine to be used in lessons. Baboon was 1.5 years old, female and *Papio hamadryas* race.

### 2.1. Macroscopic Examination

First of all, the anatomical locations of the organs were determined topographically. Organs extracted from body cavities were primarily photographed with the Nikon D200 (Japan). These organ structures were taken into 10% formaldehyde solution. Morphometric measurements were made using a digital caliper (Mitutoyo, CDN-20C, Japan). *Nomina Anatomica Veterinaria* (2017) was used for naming the structures.

## 2.2. Histolojic Examination

The tissues were removed from the animal and all procedures were done in accordance with the Institutional Animal Care and Use Committee guidelines of Bursa Uludag University. The baboon's internal organs were examined histologically. At necropsy, longitudinal tissue samples from the esophagus, stomach (cardia, fundus, pylorus), small intestine (duodenum, jejunum, ileum) and large intestine (cecum, and colon) were cut into small pieces. Specimens were fixed in 10 % formalin, processed conventionally, and embedded in paraffin. When the fixation was completed, specimens were rinsed in water briefly. After dehydration in 70% ethanol, 80% ethanol, 96% ethanol, and absolute ethanol, specimens were embedded in paraffin wax. The organs' tissue specimens were cut at 5 µm thickness by Leica RM 2125RT microtome. After the tissue sections were stained with Crossman's triple staining method by standard procedure (Crossmon, 1937). Histology sections were examined with Light microscopy (Nikon® Eclipse 80i Microscope). The photographs were taken with a camera (Nikon® Ds Camera Control Unit DS-L1, Japan).

## 3. RESULTS

### 3.1. Macroscopic Examination

It was observed that the esophagus, which started from the dorsal part of the larynx, coursed in the dorsal part of the trachea. It was determined that it inclined towards the right side of the trachea in the aperture thoracis cranialis. It was observed that it passed under the aorta in the thoracic cavity. It was determined that it proceeded distally, passed the diaphragm from the hiatus esophagicus, and opened from the cardia to the stomach. While the length of the organ was 88.44 mm, the laterolateral diameter at the end of the pharynx, middle of the neck and stomach entrance was 5.69, 6.47 and 9.07 mm, respectively.

**It was determined that the stomach was located in the regio hypochondriaca sinistra on the left side of the abdominal cavity. The stomach was detected like the letter "j" with curvature ventricular major and minor. The stomach was connected to the lobus hepatis sinister of the liver by the gastrohepatic ligament from the curvature ventriculi minor. It was determined that the curvature ventriculi major was attached to the hilus lienalis of the spleen by the gastrolial ligament. When the stomach was divided into two from the median line, spiral-shaped mucosal folds were detected. It was observed that the mucosa covering the interior was glandular. With this state of the stomach, it was determined that it was a simple, one-eyed stomach type. Morphometric measurements revealed the length of curvature ventriculi major as 63.18mm, the length of curvature ventriculi minor as 17.77mm, the pylorus length 40.29mm, the pylorus diameter 14.46mm, the cardia length 16.13mm, the width of 9.25mm and fundus transverse length 32.18mm.**



**Figure 1.** Image of gastric mucosa, E: esophagus, D: Duodenum, \*: spiral-shaped mucosal folds.

The part of the small intestine that started after the stomach was the duodenum. The choledoc duct arising from the liver and gall bladder was opening into the pars cranialis of the duodenum. Initially, the pars cranialis had an S-shaped curved appearance. It was observed as a short part with a length of 14.46



mm and a channel width of 12.87 mm. After the S-shaped fold, it was determined that it progressed in the lower right part of the abdomen and transitioned to the jejunum with the duodenojejunal flexure.

It was observed that jejunum has ansa jejunalis folds. Mesojejunum and mesenteric lymph nodes were quite prominent. It was observed that this curled part was located on the right and lower sides of the abdominal cavity. It was determined to be 1578.11mm long.

The ileum was a thin, flat and short part. Its length measured 24.99 mm. An ileocecal ligament was observed between the ileum and the cecum. It was determined that this part opened to the border of the cecum and colon.

The cecum, the first part of the large intestine, was observed on the right side of the abdominal cavity. It was determined that the blind end of the cecum, which showed a caudoventral stance, was towards the pelvis. The vermiform process was not observed at the tip. Cecum length was measured as 45.46 mm.

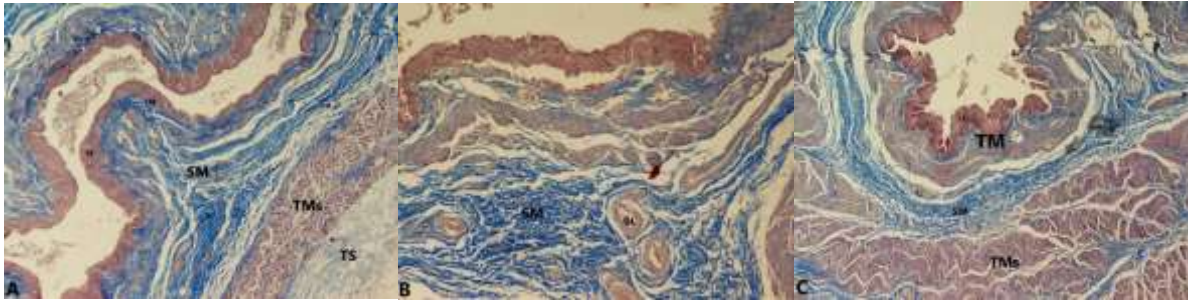
Ascending colon was observed to extend cranially on the right side of the abdominal cavity. It was determined that the ascending colon was transformed into a transverse colon with a fold (flexura coli dextra). It was determined that the transverse colon crossed the abdominal cavity and passed into the descending colon with a fold (flexura coli sinistra). The descending colon extended caudally on the left side of the abdominal cavity. The lengths of ascending colon, transverse colon and descending colon were determined as 143.36, 116.63 and 120.62 mm, respectively.

It was observed that the rectum consisted of a short area measured as 21.70 mm.



**Figure 2.** E: esophagus, G: Gaster, D: Duodenum, J: Jejunum, I: Ileum, C: Cecum, Cl: Colon, R: Rectum, \*: Ileocecal ligament.

### 3.2. Microscopic Examination



**Figure 3.** A: Esophagus first 1/3, B: Esophagus middle 1/3, C: Lower esophagus 1/3, LE: Lamina epithelialis, TM: Tunica mucosa, SM: Submucosa, TMs: Tunica muscularis, TS: Tunica serosa, GL: Glandula

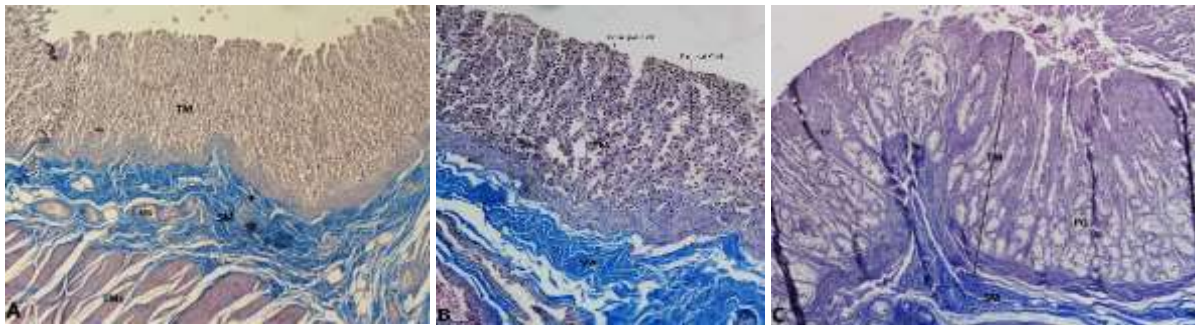
The esophagus had the glandular mucosa type throughout its entire course.

While the tunica mucosa was composed of non-keratinized stratified squamous epithelium in the lamina epithelialis layer, glands were present in the lamina propria and were observed to be covered with tight connective tissue.

The localization of the mucous glands was also determined in the submucosa.

The tunica muscularis layer had a smooth muscle structure consisting of inner circular and outer longitudinal muscles.

Tunica serosa consisted of loose connective tissue.

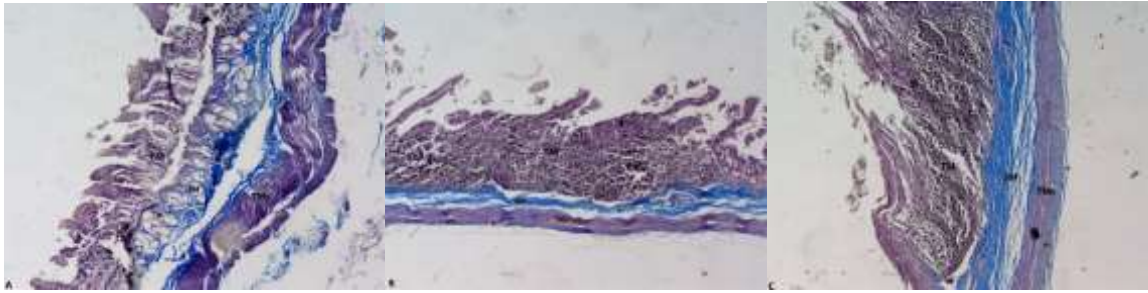


**Figure 4.** A: Cardia, B: Fundus, C: Pylorus, TM: Tunica mucosa, SM: Submucosa, TMs: Tunica muscularis, LP: Lamina propria, MG: Mucos gland, PG: Pyloric gland.

It was determined that the stomach was composed of smooth muscles and had glandular mucosa. It was observed that the Cardia region had columnar epithelium. Mucous glands, which are more prominent in the submucosa, were also found in the lamina propria.

It was observed that the fundus part was in the structure of glandular oxyntic fundic mucosa and the presence of the principal and parietal cells was observed.

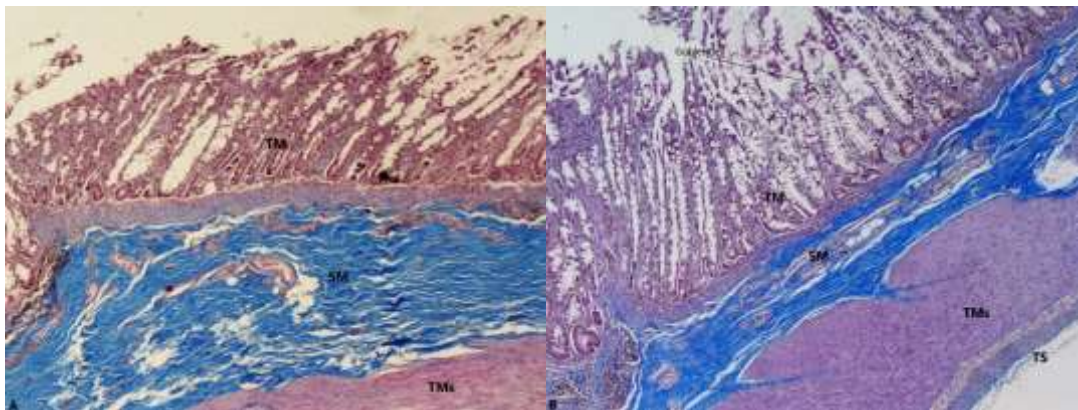
In the pylorus region, it was observed that the tunica muscularis was composed of inner circular and outer longitudinal smooth muscles, and the tunica serosa was in a loose connective tissue structure. It was determined that pyloric glands were present in the lamina propria. No glands were detected in the lamina muscularis mucosa and submucosa.



**Figure 5.** A: Duodenum, B: Jejunum, C: Ileum, TM: Tunica mucosa, SM: Submucosa, TMs: Tunica muscularis, TS: Tunica serosa, Br: Brunner's gland.

In the duodenum, microvilli were observed to be located in the parietal regions of the villus intestinal. The presence of goblet cells and intestinal villi covered with high columnar epithelium was determined. The presence of mucous glands, Brunner's glands and Meissner's nerve plexus were detected in the submucosa. It was determined that the tunica muscularis layer consisted of inner circular and outer longitudinal smooth muscles and contained the Auerbach nerve plexus. Loose connective tissue, blood vessels and fat cells were observed in the outermost layer, the tunica serosa.

While goblet cell prismatic cells formed the tunica mucosa epithelium in the jejunum – ileum sections, the presence of intestinal crypts was observed instead of villi structures. The structure of the lamina propria, submucosa, muscular mucosa, tunica muscularis, and tunica serosa were similar to the duodenum.



**Figure 6.** A: Cecum, B: Colon, TM: Tunica mucosa, SM: Submucosa, TMs: Tunica muscularis, TS: Tunica serosa.

It was determined that the cecum, which has a wall structure similar to the duodenum, does not contain intestinal villi, and the presence of intestinal crypt structures instead. It can be understood that the caecum, which is observed to contain more goblet cells than the duodenum, makes mucous secretion more abundant. Mucous glands were also located in the lamina propria. While the drainage channels were determined in the submucosa, it was clearly observed that the tunica muscularis consisted of smooth muscles.

More goblet cells were found in the colon, the tunica mucosa covered with prismatic epithelium, than in the duodenum, jejunum and ileum. While no gland structure was observed in the submucosa, the presence of fat cells was detected. A tunica muscularis consisting of smooth muscles and a thin tunica serosa were determined.

#### 4. DISCUSSION

Among primates, it has been suggested that the morphology of the gastrointestinal tract, both macroscopically and microscopically, is tightly linked to dietary ecology (Chivers & Hladik, 1980; Lambert, 1998; Martin, Chivers, MacLarnon, & Hladik, 1985). Understanding aspects of the anatomy of the digestive systems of primates is thought to provide insight into dietary restrictions, such as the diet a particular taxon can adapt to (Ferrari & Martins, 1992), and why a species targets or avoids certain

foodstuffs. (Lambert, 1998). It has been determined that the esophagus has glandular, oxyntic mucosa and squamous-type epithelial structure (Rubio, Dick, Orrego and Hubbard, 2009; Rubio, Nilsson, Owston and Dick, 2012). While the tunica mucosa was composed of non-keratinized stratified squamous epithelium in the lamina epithelial layer, glands were present in the lamina propria and were observed to be covered with tight connective tissue. The localization of the mucous glands was also determined in the submucosa.

Hartman and Straus (1933), reported that New World and Old World monkeys have a simple bottle-shaped stomach. The stomach is positioned lower and more horizontally than humans due to the shape and size of their livers (Hartman and Straus, 1933). A simple, globular stomach structure was found in all primates divided according to their diet as Faunivores, Frugivores and Folivores (Chivers and Hladik, 1980). In our study, the stomach was determined as glandular and “J” shaped simple stomach type. It is possible to see differences in the distribution of gastric glands depending on a diet (Chivers and Hladik, 1980). In accordance with the study of Vidal, Mirabile and Thomas (2008) in the cynomolgus monkey, it was observed that the fundus part of the stomach was in the glandular oxyntic fundic mucosa structure and the presence of the principal and parietal cells was observed.

Histologically, long, finger-shaped villi covered by a continuous layer of columnar epithelial cells were detected in the jejunum tissue of an adult male rhesus macaque. In addition, crypts containing proliferative cells were determined. The muscularis mucosa is a thin, smooth muscle layer that separates the mucosa from the underlying submucosa(s). The thin tunica serosa contains collagen fibers (Parker et al., 2019). In our study, the tunica mucosa epithelium was composed of goblet cell prismatic cells, while intestinal crypts were observed instead of villi structures.

Chivers and Hladik, in their study in 1980, emphasized that small intestine lengths, presence and absence of cecum, and colon lengths vary according to the type of nutrition. A well-developed colon with taenia and haustra structure and a cecum with an appendix have been reported in hominids (Goldberg et al., 1982). The colon of New World monkeys lacks the sigmoid fold, tenia, and haustra. Old World monkeys, on the other hand, have a cecum structure but no appendix structures; the colon has taenia, haustra, and a sigmoid bend. In the *Papio hamadryas* examined in our study, well-developed tenia and haustra structures were found in the cecum and colon regions. It was stated that the presence of an appendix in *Papio hamadryas* showed a variable state (Smith, Parker, Kotzé and Laurin, 2017). In agreement with the observations of McGrosky et al., (2019), the presence of an appendix was not observed. In the same study, body weight was 23,250 ( $\pm 8,132$ )gr, small intestine, 426 ( $\pm 161$ )cm, cecum, 10 ( $\pm 2$ )cm, colon, 148 ( $\pm 12$ )cm, large intestine 158 ( $\pm 10$ )cm, and total intestinal length was reported as 585 ( $\pm 172$ ) cm (McGrosky et al., 2019). In our study, was determined as the body weight of 3200g, esophagus length of 88.44 mm, curvature ventriculi major and minor 63.18 mm 17.77mm, duodenum 14.46mm, jejunum 1578.11mm, ileum 24.99mm, cecum 45.46mm, ascending, transverse and descending colon 143.36, 116.63, 120.62 mm, rectum 21.70 mm, respectively.

The colon of Rhesus macaque has a regular row of colonic crypts and a thin layer of superficial mature epithelial cells (Parker et al., 2019). In our study, it was determined that the colon structure, whose tunica mucosa is covered with columnar epithelium, contains more goblet cells than the duodenum, jejunum and ileum. While no gland structure was observed in the submucosa, the presence of fat cells was detected. The presence of tunica muscularis and tunica serosa, consisting of smooth muscles, was determined.

## 5. CONCLUSION

As a result of the research, it was understood that although the structure of *canalis alimentarius* in Baboon shows certain differences morphologically and histologically, it is generally similar to mammals. More detailed studies are needed to better understand the subject. Our study contributes to the anatomy and histology literature and is a source for future research on the subject.

## 6. REFERENCES

- Altmann S. A. (1991). Diets of yearling female primates (*Papio cynocephalus*) predict lifetime fitness. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 88(2), 420–423. <https://doi.org/10.1073/pnas.88.2.420>
- Chege, G. K., Steele, A. D., Hart, C. A., Snodgrass, D. R., Omolo, E. O., & Mwenda, J. M. (2005). Experimental infection of non-human primates with a human rotavirus isolate. *Vaccine*, 23(12), 1522–1528. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2004.06.055>
- Chivers, D. J., & Hladik, C. M. (1980). Morphology of the gastrointestinal tract in primates: comparisons with other mammals in relation to diet. *Journal of morphology*, 166(3), 337–386. <https://doi.org/10.1002/jmor.1051660306>
- Clarkson T. B. (1998). Nonhuman primate models of atherosclerosis. *Laboratory animal science*, 48(6), 569–572.
- Crossmon, G. (1937). A modification of Mallory's connective tissue stain with a discussion of the principles involved. *The Anatomical Record*, 69.
- Ferrari, S. F., & Martins, E. S. (1992). Gummivory and gut morphology in two sympatric callitrichids (*Callithrix emiliae* and *Saguinus fuscicollis weddelli*) from western Brazilian Amazonia. *American Journal of Physical Anthropology*, 88, 97–103. <https://doi.org/10.1002/ajpa.1330880108>
- Goldberg, H. I., Gould, R., Rosenquist, J., Royal, S., Owen, R. L., & Silverman, S. (1982). In vivo demonstration of small intestinal villi in dogs and monkeys using radiographic magnification. *Radiology*, 142(1), 53–58. <https://doi.org/10.1148/radiology.142.1.7053547>
- Groves, C. (2004). The What, Why and How of Primate Taxonomy. *International Journal of Primatology*, 25, 1105–1126. <https://doi.org/10.1023/B:IJOP.0000043354.36778.55>
- Groves, C. P. (1989). *A Theory of Human and Primate Evolution*, Oxford: Oxford University Press.
- Hartman, C.G., and Straus, W.L. (1933). *The Anatomy of the Rhesus Monkey (Macaca mulatta)*, Baltimore: The Williams & Wilkins Company.
- Hladik, C.M., Charles-Dominique, P., & Petter, J.J. (1980). *Feeding strategies of five nocturnal prosimians in the dry forest of the west coast of Madagascar* (pp 41–74), In Charles-Dominique P (ed), *Nocturnal Malagasy Primates*, New York: Academic Press.
- Lambert, J. E. (1998). Primate digestion: Interactions among anatomy, physiology, and feeding ecology. *Evolutionary Anthropology*, 7, 8–20. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1520-6505\(1998\)7:13.0.CO;2-C](https://doi.org/10.1002/(SICI)1520-6505(1998)7:13.0.CO;2-C)
- Maina J. N. (1988). Morphology and morphometry of the normal lung of the adult vervet monkey (*Cercopithecus aethiops*). *The American journal of anatomy*, 183(3), 258–267. <https://doi.org/10.1002/aja.1001830308>
- Martin, R. D., Chivers, D. J., MacLarnon, A. M., & Hladik, C. M. (1985). *Gastrointestinal allometry in primates and other mammals*. In W. L. Jungers (Ed.), *Size and scaling in primate biology* (pp. 61–89), New York, NY: Plenum Press.
- Maurya, H., Kumar, T., & Kumar, S. (2018). Anatomical and Physiological Similarities of Kidney in Different Experimental Animals Used for Basic Studies. *Journal of Clinical & Experimental Nephrology*, ISSN 2472-5056, Vol.3 No.2:09.
- McGrosky, A., Codron, D., Müller, D. W. H., Navarrete, A., Isler, K., Hofmann, R. R., & Clauss, M. (2019). Gross intestinal morphometry and allometry in ruminants. *Journal of Morphology*, <https://doi.org/10.1002/jmor.21028>
- Nomina Anatomica Veterinaria, (2017). *International committee on veterinary gross anatomical nomenclature (6th ed. (Revised version))*, Published by the Editorial Committee Hannover (Germany), Columbia, MO (USA), Ghent (Belgium), Sapporo (Japan).

- Parker, G. A., Li, N., Takayama, K., Booth, C., Tudor, G. L., Farese, A. M., & MacVittie, T. J. (2019). Histopathological Features of the Development of Intestine and Mesenteric Lymph Node Injury in a Nonhuman Primate Model of Partial-body Irradiation with Minimal Bone Marrow Sparing. *Health physics*, 116(3), 426–446. <https://doi.org/10.1097/HP.0000000000000932>
- Rowe, N. (1996). *The pictorial guide to the living primates*, Charlestown: Pogonias Press.
- Rubio, C. A., Nilsson, J. R., Owston, M., & Dick, E. J., Jr (2012). The length of the Barrett's mucosa in baboons, revisited. *Anticancer research*, 32(8), 3115–3118.
- Rubio, C.A., Dick, E.J., Jr, Orrego, A., & Hubbard, G.B. (2009). Further studies on the frequency and length of the glandulo-metaplastic esophageal mucosa in baboons. *In Vivo*, 23, 955–958. [PubMed: 20023239]
- Skinner, J. D., & R. H. N. Smithers. (1990). *The Mammals of the Southern African Subregion*, University of Pretoria, Pretoria, South Africa.
- Smith, H. F., Parker, W., Kotzé, S. H., & Laurin, M. (2017). Morphological evolution of the mammalian cecum and cecal appendix. *Comptes Rendus Palevol*, 16, 39–57. <https://doi.org/10.1016/j.crvp.2016.06.001>
- Swindler, D.R., and Wood, C.D. (1973). “*An Atlas of Primate Gross Anatomy*”, Seattle and London: University of Washington Press.
- Szebenyi, E.S. (1969). *Atlas of Macaca Mulatta*, Inc., Granbury: Associated University Press.
- Tardif, S., Carville, A., Elmore, D., Williams, L. E., & Rice, K. (2012). Reproduction and Breeding of Nonhuman Primates. *Nonhuman Primates in Biomedical Research*, 197–249. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381365-7.00008-X>
- Tsuchitani, M., Sato, J., & Kokoshima, H. (2016). A comparison of the anatomical structure of the pancreas in experimental animals. *Journal of toxicologic pathology*, 29(3), 147–154. <https://doi.org/10.1293/tox.2016-0016>
- Vidal, J. D., Mirabile, R. C., & Thomas, H. C. (2008). Evaluation of the cynomolgus monkey stomach: recommendations for standard sampling procedures in nonclinical safety studies. *Toxicologic pathology*, 36(2), 250–255. <https://doi.org/10.1177/0192623307312700>
- Vons, C., Beaudoin, S., Helmy, N., Dagher, I., Weber, A., & Franco, D. (2009). First description of the surgical anatomy of the cynomolgus monkey liver. *American journal of primatology*, 71(5), 400–408. <https://doi.org/10.1002/ajp.20667>
- Wagner, J. D., Cann, J. A., Zhang, L., & Jr, H. J. H. (2012). Nonhuman Primates in Biomedical Research (Second Edition) Chapter 14 - Diabetes and Obesity Research using Nonhuman Primates. *American College of Laboratory Animal Medicine*, (2), 699-732.
- Zinner, D., Groeneveld, L. F., Keller, C., & Roos, C. (2009). Mitochondrial phylogeography of baboons (*Papio* spp.): indication for introgressive hybridization?. *BMC evolutionary biology*, 9, 83. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-9-83>

**HAŞHAŞ KÜSPESİNİN PROBİYOTİK BEYAZ PEYNİR TELEMESİNİN BAZI TEKSTÜR  
VE DUYUSAL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**THE EFFECT OF POPPY PULP ON SOME TEXTURAL AND SENSORY PROPERTIES OF  
PROBIOTIC WHITE CHEESE TELEME**

*Naciye Selinay GÜN*

*Süleyman Demirel University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Isparta,  
Turkiye.*

*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5145-9167>*

*Zehra ALBAY*

*Süleyman Demirel University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Isparta,  
Turkiye.*

*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5090-8151>*

*Bedia ŞİMŞEK*

*Süleyman Demirel University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Isparta,  
Turkiye.*

*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7497-1542>*

**ÖZET**

Bu çalışmada fonksiyonel bir Beyaz peynir telemesi üretilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla besin ve lif bakımından zengin, antioksidan içeriği yüksek haşhaş küspesi kullanılmıştır. Haşhaş küspesi %1 ve %3 oranlarında ilave edilerek probiyotik Beyaz peynir teleme örnekleri üretilmiş ve tekstür ve duyusal özellikleri incelenmiştir. Örneklerin tekstürel özelliklerinin belirlenmesinde, tekstür profil analizi (TPA) uygulanmıştır. Duyusal özellikleri ise deneyimli ve eğitim verilen on panelist tarafından değerlendirilmiştir.

Çalışmada farklı oranlarda haşhaş küspesi ilavesi ile probiyotik teleme örneklerinin pH değerlerinin arttığı ve pH sonuçları arasındaki değişimin istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Tekstür profil analizi ile teleme örneklerinin sertlik değerlerinin 1488.93 g ila 4006.21 g aralığında olduğu ve haşhaş küspesinin daha sert bir tekstüre neden olduğu tespit edilmiştir. Haşhaş küspesinin örneklerin sertlik, sakızimsılık ve çiğnenebilirlik değerlerini artırırken, dış yapışkanlık, esneklik, iç yapışkanlık ve elastikiyet değerlerini azalttığı saptanmıştır ( $p<0.05$ ). Kontrol grubu ve %1 haşhaş küspesi içeren örneğin esneklik ve iç yapışkanlık değerlerinin istatistiksel olarak benzer olduğu görülmüştür. Duyusal analiz sonucunda haşhaş küspesi ilavesiyle örneklerin görünüşü, yapı, koku, tat ve genel kabul edilebilirlik puanlarının azaldığı ve en düşük değerlere %3 haşhaş küspesi içeren örneğin sahip olduğu tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ). Kontrol grubu ve %1 haşhaş küspesi içeren örneğin birbirine yakın puanlar aldığı görülmüştür. Tekstür analizi sonuçları ile benzer şekilde, haşhaş küspesi ilavesiyle örneklerin duyusal açıdan elastikliği azalırken, sertliği artış göstermiştir.

Besin ve lif açısından zengin, antioksidan içeriği yüksek olan haşhaş küspesinin, probiyotik Beyaz peynir telemesinin fonksiyonel özelliklerini kazandırmada kullanılabileceği belirlenmiştir. Çalışma sonucunda %1 oranında haşhaş küspesinin kullanılmasının telemenin tekstür ve duyusal özellikleri bakımından uygun olacağı ve gıda endüstrisinde farklı ürün formülasyonlarının oluşturulmasında başarıyla kullanılabileceği düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Probiyotik Teleme, Beyaz Peynir Telemesi, Haşhaş Küspesi, Tekstür Profil Analizi, Duyusal Analiz

## ABSTRACT

This study, it was aimed to produce a functional White cheese teleme. For this purpose, poppy pulp, which is rich in nutrients and fiber and has a high antioxidant content, was used. Probiotic White cheese teleme samples were produced by adding 1% and 3% poppy pulp, and their texture and sensory properties were examined. Texture profile analysis (TPA) was used to determine the textural properties of the samples. Sensory characteristics were evaluated by ten experienced and trained panelists.

The study found that the pH values of the probiotic teleme samples increased with the addition of poppy pulp at different rates, and the change between the pH results was statistically significant ( $p<0.05$ ). The texture profile analysis determined that the hardness values of the teleme samples ranged from 1488.93 g to 4006.21 g and the poppy pulp caused a harder texture. It was determined that while poppy pulp increased the samples' hardness, gumminess and chewiness values, it decreased the adhesiveness, springiness, cohesiveness and resilience values ( $p<0.05$ ). It was observed that the springiness and cohesiveness values of the control group and the sample containing 1% poppy pulp were statistically similar. As a result of the sensory analysis, it was determined that the appearance, texture, odor, taste and general acceptability scores of the samples decreased with the addition of poppy pulp, and the sample containing 3% poppy pulp had the lowest values ( $p<0.05$ ). It was observed that the control group and the sample containing 1% poppy pulp scored close to each other. Similar to the texture analysis results, the samples' sensory elasticity decreased while the hardness increased with the addition of poppy pulp.

It has been determined that poppy pulp, rich in nutrients and fiber and has a high antioxidant content, can be used to gain the functional properties of probiotic White cheese teleme. As a result of the study, it is thought that the use of 1% poppy pulp will be appropriate in terms of texture and sensory properties of teleme and can be used successfully in the creation of different product formulations in the food industry.

**Keywords:** Probiotic Teleme, White Cheese Teleme, Poppy Pulp, Texture Profile Analysis, Sensory Analysis

## 1. GİRİŞ

Önemli bir yağ bitkisi olmasıyla birlikte yüksek antioksidan içeriğiyle de dikkat çekmektedir. Haşhaşın içerdiği antioksidanların, kronik kalp hastalıklarına ve kansere yakalanma oranını azalttığı bildirilmiştir (Aklale ve Güneşer, 2019).

Beyaz peynir, hammaddenin peynir mayası kullanılarak pıhtılaştırılması ile elde edilen telemenin, tekniğine uygun olarak işlenmesiyle üretilen, üretim aşamalarındaki farklılıklara göre taze veya olgunlaştırılmış olarak tanımlanabilen, çeşidine özgü karakteristik özellikler gösteren salamuralı peynirdir. Teleme ise pıhtıdan peyniraltı suyunun ayrılması ile elde edilen ürünü ifade etmektedir (Anonim, 2015).

Bu çalışmada, fonksiyonel süt ürünlerine alternatif probiyotik, besin ve lif içeriği bakımından zengin Beyaz peynir telemesinin üretilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla besin ve lif açısından zengin olan farklı oranlarda (%1 ve %3) haşhaş küspesi, probiyotik kültür içeren Beyaz peynir telemesine ilave edilmiştir. Farklı haşhaş küspesi oranlarının telemelerin bazı tekstürel ve duyuşal özelliklerine etkisi istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

## 2. MATERYAL VE METOT

### Probiyotik Beyaz Peynir Telemesinin Üretimi

Probiyotik Beyaz peynir telemesinin üretimi, Üçüncü (2010) tarafından belirtilen metoda göre yapılmıştır. Bunun için öncelikle standartlara uygun çiğ inek sütü, 72 °C'de 2 dakika pastörize edilmiştir. Pastörize süte %0.02 oranında %40'lık  $CaCl_2$  çözeltisinden ilave edilmiştir. Pastörize süt 3 gruba ayrılmıştır ve sıcaklığın  $30\pm 2$  °C'ye gelmesi sağlanmıştır. Birinci grup, haşhaş küspesi ilavesiz (C) olarak işlenmiştir. Diğer iki gruba ise kavurma derecesine getirilmeden ısıtılan %1 (H1) ve %3 (H3) oranlarında haşhaş küspesi ilavesi yapılmıştır. Daha sonra %1 oranında probiyotik kültür



(*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12<sup>®</sup> ve *Lactobacillus acidophilus* LA-5<sup>®</sup> (FD-DVS nu-trish<sup>®</sup>, Chr Hansen) ve %1 oranında mezofilik strater kültür (R-707, FD-DVS, Chr Hansen)( $>10^7$  log kob/g) eklenmiştir. Ön olgunlaştırma işleminden sonra sıvı şirden peynir mayası (Naturen Mandra 175, Chr Hansen) ilave edilmiştir. Pıhtılaştırma işlemi  $30\pm 2$  °C'de 90 dakika yapılmıştır. Oluşan pıhtı, 1x1x1 cm boyutlarında kesilmiş ve ilk 20 dakika kendi halinde süzölmüştür. Daha sonra 2.5 saat kademeli olarak baskılama işlemi uygulanmış ve peyniraltı suyu uzaklaştırılmıştır. Elde edilen telemeler  $+4\pm 1$  °C'de depolanmış ve 24 saat içerisinde analizleri yapılmıştır.



Şekil 1. Haşhaş küspesi ilaveli teleme örnekleri (Soldan sağa doğru; C: Haşhaş küspesi ilavesiz teleme (Kontrol), H1: Haşhaş küspesi %1 ilaveli teleme, H3: Haşhaş küspesi %3 ilaveli teleme)

### Telemelerde Yapılan Analizler

Probiyotik Beyaz peynir telemelerinin pH değerleri, WTW pH 315 (Weilheim, Almanya) dijital pH metre yardımıyla saptanmıştır.

Probiyotik Beyaz peynir telemelerinde yapılan tekstür profil analizi (TPA), Deveci (2016) tarafından belirtilen yöntemde bazı küçük modifikasyonlarla gerçekleştirilmiştir. Öncelikle telemeler, 50x50x25 mm ebatlarında kesilmiş ve kurumayı önlemek için plastik film ile sarılmıştır. Örnekler analiz öncesi oda sıcaklığına ( $20\pm 2$  °C) gelene kadar bekletilmiştir. Telemelerin tekstür profil analizi, tekstür analiz cihazı (TA-XT Plus, Texture Stable Micro Systems, İngiltere) yardımıyla yapılmıştır. Analiz için SMS P/36R alüminyum silindir prob (36 mm çapında, AACC standart prob) ve AD/100 alüminyum prob adaptörü (100 mm uzunlukta) kullanılmıştır. Her bir teleme örneğinde 4 farklı ölçüm yapılarak, örneklerin sertlik (hardness), dış yapışkanlık (adhesiveness), esneklik (springiness), iç yapışkanlık (cohesiveness), sakızimsılık (gumminess), çiğnenebilirlik (chewiness) ve elastikiyet (resilience) parametreleri belirlenmiştir. Analiz şartları: Yük hücresi 5 kg, baskı %30, ilk test hızı 1.0 mm/s, test hızı 1.0 mm/s, son test hızı 1.0 mm/s ve tutma zamanı 5 s'dir.

Telemelerin duyu analizleri, deneyimli 10 panelist (5 kadın ve 5 erkek) tarafından yapılmıştır. Örnekler, rastgele belirlenen üç basamaklı sayılar ile kodlanmıştır. Panelistler tarafından telemelerin kesit-görünüş, yapı, koku ve tat parametreleri kabul edilebilirlik açısından değerlendirilmiştir. Puanlama sisteminde puanlar en fazla beğeni 9 puan ve en az beğeni 1 puan olacak şekilde belirlenmiştir. Deneyimli panelistlere, teleme örneklerini değerlendirmeye başlamadan önce iki gün 2 saatlik eğitim verilmiştir. Belirtilen duyu özellikler bakımından çok iyi ve çok kötüyü temsil edecek örnekler panelistlere tattırılmış ve asıl örneklerin değerlendirilmesinde referans olarak kullanılmaları istenmiştir. Telemeler, duyu analizleri yapılmaya kadar  $+4\pm 1$  °C'de muhafaza edilmiştir (Lawless ve Heymann, 2010).

### 3. ARAŞTIRMA VE BULGULAR

#### Telemelerin kimyasal özellikleri

Haşhaş küspesi ilavesi yapılmayan kontrol örneğinin ortalama pH değeri  $5.14\pm 0.08$  olarak bulunmuştur. Haşhaş küspesi ilavesi ile probiyotik telemelerin pH değerlerinin arttığı, %1 ve %3 haşhaş küspesi içeren örneklerin ortalama pH değerlerinin sırasıyla  $5.22\pm 0.01$  ve  $5.32\pm 0.02$  olduğu belirlenmiştir. Telemelere haşhaş küspesi ilavesi ile pH sonuçları arasındaki değişim istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p<0.05$ ).

Uğur (2019), yaptığı çalışmada teleme peynirinin pH değerinin 5.28 olduğunu saptamış ve bu çalışmada %3 haşhaş küspesi içeren örnekte belirlenen pH değerleriyle benzer olduğu görölmüştür. Göncü (2018)

tarafından farklı oranlarda baharat ilave edilen Eritme peynirlerinin pH değerlerinin depolamanın ilk gününde 5.58-5.64 arasında değiştiği bulunmuştur. Yapılan bir başka çalışmada mavi haşhaş tohumu ilaveli krem peynirlerinin pH değerleri depolama süresince (60 gün) 6.00-6.10 aralığında değiştiği ve depolamanın sonuna doğru düzenli biçimde indirildiği belirlenmiştir. Asitliğin iz miktardaki artışında, mavi haşhaş tohumlarının içerdiği yağı (%35 civarı) depolama süresince krem peynir ortamına salmasının ve kısmen de olsa hidrolizi teşvik etmesinin rol oynadığı belirtilmiştir (Aklale ve Güneşer, 2019).

### Tekstür profil analiz (TPA) sonuçları

Haşhaş küspesi ilave edilen probiyotik Beyaz peynir telemelerinin tekstür profil analiz (TPA) sonuçları Çizelge 1'de verilmiştir. Kontrol grubu, %1 ve %3 haşhaş küspesi içeren teleme örneklerinin sertlik değerlerinin sırasıyla 1488.93 g, 2832.69 g ve 4006.21 g olduğu ve haşhaş küspesinin daha sert bir tekstüre neden olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte haşhaş küspesi, örneklerin sakızimsılık ve çignenebilirlik değerlerini artırırken, dış yapışkanlık, esneklik, iç yapışkanlık ve elastikiyet değerlerini azaltmıştır. İstatiksel değerlendirme sonucunda haşhaş küspesi ilavesinin, telemelerin tüm tekstür değerleri üzerine etkisinin önemli olduğu bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Kontrol grubu ve %1 haşhaş küspesi içeren örneğin esneklik ve iç yapışkanlık değerlerinin istatistiksel olarak benzer olduğu görülmüştür.

Çizelge 1. Haşhaş küspesi ilave edilen Beyaz peynir telemelerinin tekstür profil analiz (TPA) sonuçları

Tekstür Özellikleri**	Teleme Örnekleri*		
	C	H1	H3
Sertlik(g)	1488.93±5.84 <sup>c</sup>	2832.69±42.06 <sup>b</sup>	4006.21±118.10 <sup>a</sup>
Dış Yapışkanlık (g.s)	-2.44±0.75 <sup>a</sup>	-9.77±0.94 <sup>b</sup>	-23.51±0.45 <sup>c</sup>
Esneklik	0.84±0.04 <sup>a</sup>	0.84±0.00 <sup>a</sup>	0.71±0.02 <sup>b</sup>
İç Yapışkanlık	0.71±0.01 <sup>a</sup>	0.70±0.01 <sup>a</sup>	0.56±0.01 <sup>b</sup>
Sakızimsılık	1071.29±0.04 <sup>c</sup>	1596.72±24.01 <sup>b</sup>	2832.24±31.52 <sup>a</sup>
Çignenebilirlik	900.41±47.89 <sup>c</sup>	1141.51±16.91 <sup>b</sup>	2408.55±14.87 <sup>a</sup>
Elastikiyet	0.36±0.00 <sup>a</sup>	0.32±0.00 <sup>b</sup>	0.21±0.00 <sup>c</sup>

\*C: Haşhaş küspesi ilavesiz teleme (Kontrol grubu), H1: Haşhaş küspesi %1 ilaveli teleme, H3: Haşhaş küspesi %3 ilaveli teleme

\*\*a-c: Farklı harfler, gruplar arasındaki istatistiksel önemi göstermektedir ( $p<0.05$ ).

Yapılan bir çalışmada telemelerin sertlik değerlerinin 3.36 ila 11.35 N ve dış yapışkanlık değerlerinin -398.09 ila -58.47 aralıklarında değiştiği belirlenmiştir (Uğur, 2019). Farklı bir çalışmada ise baharat ilaveli Eritme peynirlerinin sertlik değerlerinin kontrol örneğinden daha yüksek çıktığı ve bunun sebebinin, eklenen baharat çeşidi ve oranlarına bağlı olarak peynir kurumaddesinin farklı olmasıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir. Ayrıca kontrol örneğinin sertlik, elastiklik, iç yapışkanlık, çignenebilirlik ve sakızimsılık değerlerinin baharat ilaveli örneklerle göre daha düşük olduğu ancak dış yapışkanlık değerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Göncü, 2018).

### Duyusal analiz sonuçları

Haşhaş küspesi ilave edilen telemelerin duyusal analiz sonuçları Çizelge 2'de verilmiştir. İstatistik analizi sonucunda haşhaş küspesi ilavesinin probiyotik Beyaz peynir telemelerinin duyusal özellikleri üzerine etkisi önemli olmuştur ( $p<0.05$ ). Ancak haşhaş küspesinin telemelerin pişmiş, hayvansal, hoş gitmeyen koku ve kendine has hoş koku özellikleri ile ransid ve hoş gitmeyen yabancı tat özellikleri üzerine etkisinin önemli olmadığı belirlenmiştir. Telemelerin görünüş, yapı, koku, tat ve genel kabul edilebilirlik puanlarının haşhaş küspesi ilavesiyle azaldığı ve en düşük değerlere %3 haşhaş küspesi içeren örneğin sahip olduğu gözlemlenmiştir. Telemelerden %1 haşhaş küspesi içeren örneği, kontrol grubuna yakın puanlar aldığı görülmüştür. Puanlama sisteminde puan 1'den 9'a doğru arttıkça renk daha açık sarı, parlak ve homojen olmaktadır. Haşhaş küspesi, telemenin açık sarı ve parlak rengi artırırken, homojen renkliliğini azaltmıştır. Haşhaş küspesi oranı arttıkça örneklerde haşhaş küspesinin görünümü, kokusu, tadı ve ağızdaki hissi belirgin bir şekilde artmıştır. Tekstür sonuçları ile benzer şekilde, haşhaş küspesi ilavesiyle telemelerin elastikliği azalırken, sertliği artış göstermiştir. Bununla birlikte ufalanan yapı ve ağızda yapışma/sıvanma durumunu oldukça artmıştır. Örneklerin yağlı görünümü ve ağızda

yağlılık hissi puanlarında, haşhaş küspesi ilavesi ile azalma görülürken, yağlımsı tat puanlarında artış meydana gelmiştir. Çalışmada en yüksek asidik tadın %1 haşhaş küspesi içeren örnekte olduğu ve istatistiksel olarak farklı oranlarda haşhaş küspesi içeren örneklerin asidik tadının benzer olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 2. Haşhaş küspesi ilave edilen Beyaz peynir telemelerinin duyu analizi sonuçları

Duyusal Özellikler**	Teleme Örnekleri*		
	C	H1	H3
Kesit - görünüş	8.40±0.52 <sup>a</sup>	7.19±0.73 <sup>ab</sup>	5.87±0.82 <sup>b</sup>
Yapı	8.51±0.50 <sup>a</sup>	7.05±0.93 <sup>b</sup>	5.44±0.51 <sup>c</sup>
Koku	8.47±0.46 <sup>a</sup>	7.26±0.64 <sup>b</sup>	6.11±0.18 <sup>c</sup>
Tat	8.35±0.56 <sup>a</sup>	7.07±0.88 <sup>a</sup>	5.66±0.57 <sup>b</sup>
Genel kabul edilebilirlik	8.42±0.50 <sup>a</sup>	7.13±0.80 <sup>b</sup>	5.81±0.31 <sup>c</sup>
Renk (Donuk beyaz-açık sarı)	1.84±0.27 <sup>c</sup>	5.10±1.01 <sup>b</sup>	7.21±1.35 <sup>a</sup>
Renk (Mat-parlak)	2.21±0.70 <sup>b</sup>	5.18±0.73 <sup>a</sup>	6.07±1.89 <sup>a</sup>
Homojen renklilik	8.22±0.37 <sup>a</sup>	5.21±1.57 <sup>b</sup>	4.17±1.25 <sup>b</sup>
Haşhaş küspesinin belirginliği	1.00±0.00 <sup>c</sup>	7.87±0.23 <sup>b</sup>	9.00±1.73 <sup>a</sup>
Yağlı görünüm	6.23±1.32 <sup>a</sup>	4.52±0.50 <sup>ab</sup>	3.03±1.76 <sup>b</sup>
Pürüzlü-pürüzsüz görünüm	8.27±1.27 <sup>a</sup>	3.66±1.15 <sup>b</sup>	2.52±1.83 <sup>b</sup>
Elastiklik	5.93±0.89 <sup>a</sup>	3.83±1.25 <sup>ab</sup>	3.18±1.59 <sup>b</sup>
Sertlik durumu	3.47±1.35 <sup>b</sup>	4.90±1.01 <sup>ab</sup>	6.55±1.72 <sup>a</sup>
Ufalanan yapı	2.40±1.44 <sup>b</sup>	6.49±0.50 <sup>a</sup>	8.04±1.06 <sup>a</sup>
Ağızda haşhaş küspesi hissi	1.00±0.00 <sup>c</sup>	6.63±0.63 <sup>b</sup>	8.50±0.50 <sup>a</sup>
Ağızda yağlılık hissi	7.58±1.23 <sup>a</sup>	5.53±1.50 <sup>ab</sup>	4.20±0.72 <sup>b</sup>
Ağızda yapışma/sıvanma	3.90±1.15 <sup>b</sup>	5.70±0.51 <sup>ab</sup>	7.05±1.64 <sup>a</sup>
Pişmiş koku	1.00±0.00 <sup>a</sup>	1.75±1.29 <sup>a</sup>	2.15±1.99 <sup>a</sup>
Hayvansal kötü koku	1.00±0.00 <sup>a</sup>	1.33±0.57 <sup>a</sup>	1.40±0.69 <sup>a</sup>
Haşhaş kokusu	1.00±0.00 <sup>c</sup>	6.56±0.51 <sup>b</sup>	8.50±0.50 <sup>a</sup>
Kendine has hoş koku	4.46±0.50 <sup>a</sup>	6.00±1.73 <sup>a</sup>	6.35±0.56 <sup>a</sup>
Hoşa gitmeyen koku	1.00±0.00 <sup>a</sup>	1.68±1.18 <sup>a</sup>	1.70±1.21 <sup>a</sup>
Asidik tat	2.40±0.52 <sup>b</sup>	4.29±0.50 <sup>a</sup>	3.67±0.57 <sup>a</sup>
Yağlımsı tat	3.45±1.38 <sup>b</sup>	5.86±1.21 <sup>ab</sup>	6.85±1.99 <sup>a</sup>
Ransid tat	1.00±0.00 <sup>a</sup>	1.67±1.15 <sup>a</sup>	2.00±1.73 <sup>a</sup>
Haşhaş tadı	1.00±0.00 <sup>c</sup>	6.92±0.88 <sup>b</sup>	8.83±0.28 <sup>a</sup>
Hoşa gitmeyen yabancı tat	1.00±0.00 <sup>a</sup>	2.40±2.25 <sup>a</sup>	2.67±1.52 <sup>a</sup>

\*C: Haşhaş küspesi ilavesiz teleme (Kontrol grubu), H1: Haşhaş küspesi %1 ilaveli teleme, H3: Haşhaş küspesi %3 ilaveli teleme

\*\*a-c: Farklı harfler, gruplar arasındaki istatistiksel önemi göstermektedir (p<0.05).

#### 4. SONUÇ

Bu çalışmada iki farklı oranda (%1 ve %3) haşhaş küspesi ilavesi ile Beyaz peynir telemeleri üretilmiş ve telemelerin tekstürel ve duyu özelliklerine etkisi incelenmiştir. Çalışmada haşhaş küspesi ilavesi sonucunda probiyotik telemelerin pH değerlerinin arttığı tespit edilmiştir (p<0.05). Yapılan tekstür profil analiz (TPA) ile haşhaş küspesinin telemelerde daha sert bir tekstüre neden olduğu belirlenmiştir. Haşhaş küspesi, telemelerin sakızimsılık ve çiğnenebilirlik değerlerini artırırken, dış yapışkanlık, esneklik, iç yapışkanlık ve elastikiyet değerlerini azaltmıştır (p<0.05). Duyusal analiz sonucunda haşhaş küspesi ilavesiyle telemelerin görünüş, yapı, koku, tat ve genel kabul edilebilirlik puanlarının azaldığı ve en düşük değerlere %3 haşhaş küspesi içeren örneğin sahip olduğu saptanmıştır (p<0.05). Telemelerden %1 haşhaş küspesi içeren örnek, kontrol grubuna yakın puanlar almıştır. Beyaz peynir telemesinin fonksiyonel özellikler kazanabilmesi için haşhaş küspesinin kullanılabilirliği belirlenmiştir. Çalışma sonucunda tekstür ve duyu özellikler bakımından %1 oranında haşhaş küspesinin kullanılmasının uygun olacağı tespit edilmiştir.

## 5. KAYNAKLAR

Aklale, B., & Güneşer, B. A. (2019). Haşhaş tohumu içeren Krem peynir formülasyonlarının geliştirilmesi ve kalite parametrelerinin değerlendirilmesi. Uşak Üniversitesi Fen ve Doğa Bilimleri Dergisi, 3(1), 24-36.

Anonim. (2015). Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği (2015/6). 08.02.2015 Tarihli ve 29261 Sayılı Resmî Gazete, Ankara.

Deveci, F. (2016). Beyaz peynir üretiminde kullanılan farklı baharat türlerinin olgunlaşmaya etkilerinin araştırılması. Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 88s, Ordu.

Göncü, B. (2018). Bazı baharat çeşitlerinin dilimlenebilir Eritme peyniri üretiminde kullanım olanaklarının araştırılması. Harran Üniversitesi, Fen Bilimler Enstitüsü, Doktora Tezi, 149s, Şanlıurfa.

Lawless, H. T., & Heymann, H. (2010). Sensory evaluation of food principles and practices. 2nd Edition, XXIII, ISBN 978-1-4419-6488-5.

Uğur, S. (2019). Tatlı ve tuzlu peynir cipsi özelliklerinin ve akrilamid içeriklerinin belirlenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 127s, Isparta.

Üçüncü, M. (2010). Süt ve mamülleri teknolojisi. Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, ISBN 975-98951-3-7, 148s, Meta Basım Matbaacılık, İzmir.

**DENEYSSEL OLARAK UYGULANAN FAVİPİRAVİR'İN (T-705) SIÇANLARDA KALP  
DOKUSU HİSTOLOJİSİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**  
**INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF EXPERIMENTALLY ADMINISTERED  
FAVIPİRAVİR (T-705) ON HEART TISSUE HISTOLOGY IN RATS**

*Aykut ULUCAN<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Bingöl Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü,  
Bingöl, Türkiye.*

<sup>1</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8844-8237>*

*Seda YAKUT<sup>2</sup>*

<sup>2</sup>*Bingöl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bingöl, Türkiye.*

<sup>2</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1673-5661>*

*Adem KARA<sup>3</sup>*

<sup>3</sup>*Erzurum Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Erzurum,  
Türkiye.*

<sup>3</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5766-6116>*

**ÖZET**

Favipiravir, seçici bir RNA polimeraz inhibitörü ve geniş spektrumlu bir antiviral ilaç olup, Ebola, Lassa ve COVID-19 dahil olmak üzere viral enfeksiyonlarda kullanılan önemli bir ajandır. RNA polimerazlar (kısaca RNAP veya RNAPol), bir DNA veya RNA molekülündeki bilgiyi RNA molekülü olarak kopyalayan bir enzimler ailesidir. Moleküler çalışmalar, viral proteazların, fonksiyonel ürünler elde etmek için yüksek moleküler ağırlıklı viral poli-protein öncüllerinin bölünmesini etkileyerek ya da virüs partiküllerinin toplanması ve morfogenezi için gerekli yapısal proteinlerin işlenmesini katalize ederek birçok virüsün yaşam döngüsünde kritik bir rol oynadıklarını göstermiştir. Favipiravir'in etki mekanizması yeni bir yöntem olup, primer olarak virüsün hücre içerisine girişini ve çıkışını engellemektedir. Bu çalışma, favipiravir uygulamasının sıçanların kalp dokusu üzerindeki potansiyel toksikolojik etkilerini değerlendirmeyi hedeflemektedir.

Bu çalışmada, her bir grupta eşit sayıda (n=7) olmak üzere toplamda 28 adet wistar albino ırkı 12 haftalık sıçan kullanıldı. Favipiravir deneysel gruplardaki sıçanlara 200 mg/kg dozda beş ve on gün süreyle uygulanmıştır. Bu süre zarfında kalp üzerindeki olası toksik etkilerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Deneysel prosedür sonrasında elde edilen kalp dokusu örnekleri rutin histolojik teknikle işlenerek mikroskopik değerlendirmeye hazır hale getirildi ve favipiravirin kalp dokusu üzerindeki etkisi histopatolojik olarak incelendi.

Elde ettiğimiz bulgura göre, favipiravir uygulamasının histopatolojik olarak kardiyak hasara yol açtığı saptandı. Favipiravir verilen sıçanlarda kalp dokusunda mononükleer hücre infiltrasyonları, miyolizis ve miyofibriller dejenerasyon gözlemlendi. Histopatolojik bulgular inflamatuvar reaksiyon skoru hesaplanarak semi-kantitatif yolla değerlendirildi. Bu bulgular eşliğinde, favipiravir veya metabolitlerinin kalp hasarına neden olduğu belirlenmiştir.

Bu çalışmada favipiravirin sağlıklı sıçanlarda kalp dokusu üzerindeki toksisitesi histopatolojik yönden değerlendirildi. Favipiravir, SARS-CoV-2 ile enfekte vakaların semptomatik tedavisinde değerli bir ilaç olarak ortaya çıkmaktadır. Ancak, bu ilaç koşulsuz olarak önerilmeden önce kalp dokusu hasarlarının ciddiyetini ve ilgili mekanizmaları belirlemek için daha fazla araştırmaya gereksinim vardır. Ayrıca, favipiravir tedavisi ile kardiyak toksisite arasındaki ilişkinin daha kapsamlı belirlenebilmesi için, tekrarlayan ve farklı dozlarda favipiravir uygulaması ile birlikte daha kapsamlı histopatolojik, immünohistokimyasal ve serolojik incelemeler gereklidir.

**Anahtar Kelimeler:** Anti-viral, Favipiravir, Histopatoloji, Kalp, Sıçan

## ABSTRACT

Favipiravir is a selective RNA polymerase inhibitor and a broad-spectrum antiviral drug and is an important agent used in viral infections including Ebola, Lassa and COVID-19. RNA polymerases (RNAP or RNAPol for short) are a family of enzymes that copy the information in a DNA or RNA molecule into an RNA molecule. Molecular studies have shown that viral proteases play a critical role in the life cycle of many viruses, either by affecting the cleavage of high molecular weight viral poly-protein precursors to yield functional products or by catalyzing the processing of structural proteins required for the assembly and morphogenesis of virus particles. The mechanism of action of favipiravir is novel and primarily blocks the entry and exit of the virus into the cell. This study aims to evaluate the potential toxicologic effects of favipiravir administration on rat heart tissue.

In this study, a total of 28 wistar albino 12-week-old rats were used, with equal numbers (n=7) in each group. Favipiravir was administered to rats in the experimental groups at a dose of 200 mg/kg for five and ten days. It was aimed to determine the possible toxic effects on the heart during this period. Heart tissue samples obtained after the experimental procedure were processed by routine histological technique and prepared for microscopic evaluation and the effect of favipiravir on heart tissue was examined histopathologically.

According to our findings, favipiravir administration caused cardiac damage histopathologically. Mononuclear cell infiltration, myolysis and myofibrillar degeneration were observed in the heart tissue of favipiravir treated rats. Histopathologic findings were evaluated semi-quantitatively by calculating the inflammatory reaction score. In the light of these findings, it was determined that favipiravir or its metabolites cause cardiac damage.

In this study, the toxicity of favipiravir on heart tissue in healthy rats was evaluated histopathologically. Favipiravir is emerging as a valuable drug for the symptomatic treatment of SARS-CoV-2-infected patients. However, further research is needed to determine the severity of cardiac tissue damage and the mechanisms involved before this drug can be unconditionally recommended. Furthermore, more extensive histopathologic, immunohistochemical and serologic investigations with repeated and different doses of favipiravir administration are required to further determine the relationship between favipiravir treatment and cardiac toxicity.

**Keywords:** Anti-viral, Favipiravir, Histopathology, Heart, Rat

## 1. GİRİŞ

Favipiravir, Japon Toyama Chemical tarafından üretilen ve günümüzde özellikle Sars-cov-2 virüsünün oluşturduğu Covid-19 hastalığının tedavisinde kullanılmış olan ajanlardan biridir. Ayrıca influenza ve bazı virüslere karşı kullanılan, RNA bağımlı RNA polimeraz enzimi seçici inhibitörü olan favipiravir'in (T-705; 6-fluoro-3-hydroxy-2-pyrazinecarboxamide), kemirgenlerde ve in vitro çalışmalarda, arena-, bunya ve flavivirüs'lere karşı aktif etki gösterdiği belirlenirken, alfavirus, paramoxyvirus ve norovirüs'lere karşı da potansiyel etki aktivitesine sahip olabileceği ileri sürülmüştür [1].

Favipiravir bir RNA polimeraz inhibitörüdür. RNA polimerazlar (kısaca RNAP veya RNAPol), bir DNA veya RNA molekülündeki bilgiyi RNA molekülü olarak kopyalayan bir enzimler ailesidir. Bir gende yer alan bilginin RNA molekülü olarak kopyalanma işlemi transkripsiyon olarak adlandırılır. Hücrelerde RNAP genleri, RNA'nın zincirler halinde okunmasını sağlar. RNA polimeraz enzimleri, tüm canlılarda ve birçok virüste bulunur. Kimyasal isimlendirmesiyle RNAP, bir nükleotidil transferaz enzimidir, bir RNA 20 molekülünün 3' ucunda ribonükleotitlerin polimerleşmesini sağlar. Moleküler çalışmalar, viral proteazların, fonksiyonel ürünler elde etmek için yüksek moleküler ağırlıklı viral poli-protein öncüllerinin bölünmesini etkileyerek ya da virüs partiküllerinin toplanması ve morfogenezi için gerekli yapısal proteinlerin işlenmesini katalize ederek birçok virüsün yaşam döngüsünde kritik bir rol oynadıklarını göstermiştir. HIV, HCV, Picorna virüsler, RSV, Herpes virüsler, Rota virüsü ve SARS gibi çok sayıda RNA ve DNA virüsünün tedavisi için proteaz inhibitörleri üzerinde birçok araştırma sürdürülmektedir [2-4]. Favipiravir'in etki mekanizması yeni bir yöntem olup, primer olarak virüsün hücre içerisine girişini ve çıkışını engellemektedir. Aktif favipiravir-ribofuranosil-5'-trifosfat (RTP), seçici olarak RNA polimeraz aktivitesini inhibe eder ve viral genomun replikasyonunu engeller [5].

Favipiravir-RTP ile RNA bağımlı RNA polimeraz interaksyonu ile ilgili birkaç hipotez bulunmaktadır. Bunların en geçerli olanı favipiravir-RTP oluşmaya başlayan (nascent) RNA ipliğine tutunarak RNA ipliğinin uzamasını ve viral genom üremesini engeller [6,7].

## 2. MATERYAL VE METOT

### Deney Hayvanı, Ortamı ve Etik Kapsam

Bu çalışmada, Bingöl Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden temin edilen 28 adet, 12 haftalık erkek 280-300 g ağırlığındaki Wistar albino ırkı sıçanlar 4 gruba ayrılarak (n=7) kullanıldı. Sıçanlar deney başlamadan 1 hafta önce laboratuvar ortamına adaptasyon için hazırlandı. Sıçanlar  $24 \pm 2$  °C'de ışık kontrollü bir ortamda (12 saat aydınlık/karanlık döngüsü) standart koşullar altında tutuldu. Sıçanlar çalışma boyunca standart rat yemi (DSA Yem, Türkiye) ile ad-libitum olarak beslendi ve düzenli olarak içme suyu verildi. Hayvanlar üzerindeki tüm uygulamalar Bingöl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 29.06.2021 tarih ve 03/03 sayılı izni ile gerçekleştirilmiştir.

### Favipiravir Solüsyonun Hazırlanması ve Uygulaması

Favipiravir (T-705) dimethylsülfoksit içerisinde çözünerek serum fizyolojik ile seyreltildi ve son dimethylsülfoksit konsantrasyonunun %1'in altında olması sağlandı. Favipiravir etken maddesi ratlara günlük 200 mg/kg dozunda gastrik gavaj uygulaması ile verildi.

### Deneyel Çalışma Dizayını

Deneysel çalışma grupları ve sıçanlar üzerinde yapılan uygulamalar Tablo 1'de verilmiştir. Buna göre favipiravir bir gruba 5 gün diğer gruba ise 10 gün boyunca uygulandı. İlaç uygulanan ratlar, çalışmanın 5 ve 10 gününde anestezi altında kanları alındıktan sonra sakrifiye edildi. Ötenazisi yapılan ratlardan alınan kalp dokuları histolojik incelemeler için kullanıldı.

**Tablo 1.** Deney grupları ve prosedürü süreci

Gruplar	Uygulama	Prosedürün sonlandırılması
<b>Kontrol-1 Grubu</b> (7 hayvan)	Gasrtik gavaj ile serum fizyolojik 5 gün boyunca oral yolla verildi	Çalışmanın 5. gününde ötenazi
<b>Kontrol-2 Grubu</b> (7 hayvan)	Gasrtik gavaj ile serum fizyolojik 10 gün boyunca oral yolla verildi	Çalışmanın 10. gününde ötenazi
<b>Deney-1 Grubu</b> (7 hayvan)	Gasrtik gavaj ile 200 mg/kg Favipiravir 5 gün boyunca oral yolla verildi	Çalışmanın 5. gününde ötenazi
<b>Deney-2 Grubu</b> (7 hayvan)	Gasrtik gavaj ile 200 mg/kg Favipiravir 10 gün boyunca oral yolla verildi	Çalışmanın 10. gününde ötenazi

### Anestezi ve Nekropsi Uygulamaları ile Kan ve Doku Örneklerinin İşlenmesi

Tüm ratlar % 2 ksilazin hidroklorür (Rompun) ve 10 mg/kg ve 10% ketamin hidroklorür (Ketalar) 60 mg/kg dozlarda intraperitoneal yolla uygulanarak öncelikle tüm ratların anestezileri sağlandı. Anestezi altındaki ratlardan dekapitasyon ile ötenazi işlemi esnasında kan örnekleri alındı. Tüm hayvanların kalp dokuları sistemik nekropsi sırasında çıkarıldı ve %10 tamponlu formaldehit içinde 48 saat süreyle fikse edildi. Doku örnekleri rutin histopatolojik işlemlerden sonra parafine gömüldü ve parafin bloklar oluşturuldu. Parafine gömülen dokular rotary mikrotom (RM 2155, Leica, Almanya) ile 5 µm kalınlığında kesildi ve adeziv lamlara aktarıldı. Preparatlar rutin histopatolojik inceleme için Hematoksilen ve Eozin (H&E) boyandı [8]. Son olarak, preparatlar histopatolojik değişiklikler açısından görüntüleme sistemi uyarlanmış ışık mikroskobu (DM2500, Leica, Almanya) ile incelendi.

### Histopatolojik Analiz

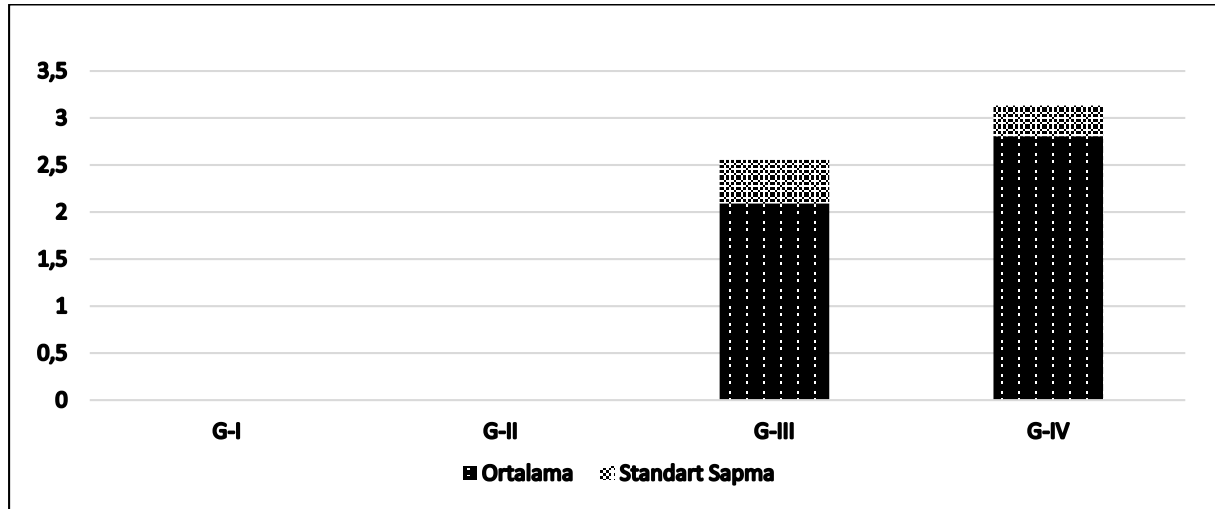
Histopatolojik incelemeler bir örneğin sağlanması açısından, her bir doku örneğinde kalbin sol ventrikülünden rastgele seçilen 3 farklı bölgedeki longitudinal seyirli kardiyak miyositlerin bulunduğu myokardial alanın değerlendirilmesiyle yapıldı. Preparatlar kaynak literatürde belirtilen metot kapsamında semi-kantitatif teknikle myokarddaki inflamatuvar reaksiyona göre (İnflamatuvar Reaksiyon Skoru) (İRS) derecelendirildi. Buna göre İRS skorları: 0 skoru, hiçbir lezyon olmadığını veya hiçbir şüpheli lezyonun bulunmadığını göstermektedir. +1 skoru miyokardiyal lezyonların sınırlı fokal dağılımını göstermektedir. +2 ile +3 arasında değişen skorlar birden fazla lezyonla birlikte orta şiddeti gösterirken, +4 skoru incelenen kalp dokusu üzerinde yaygın ve şiddetli lezyonları göstermektedir [9].

### 3. BULGULAR

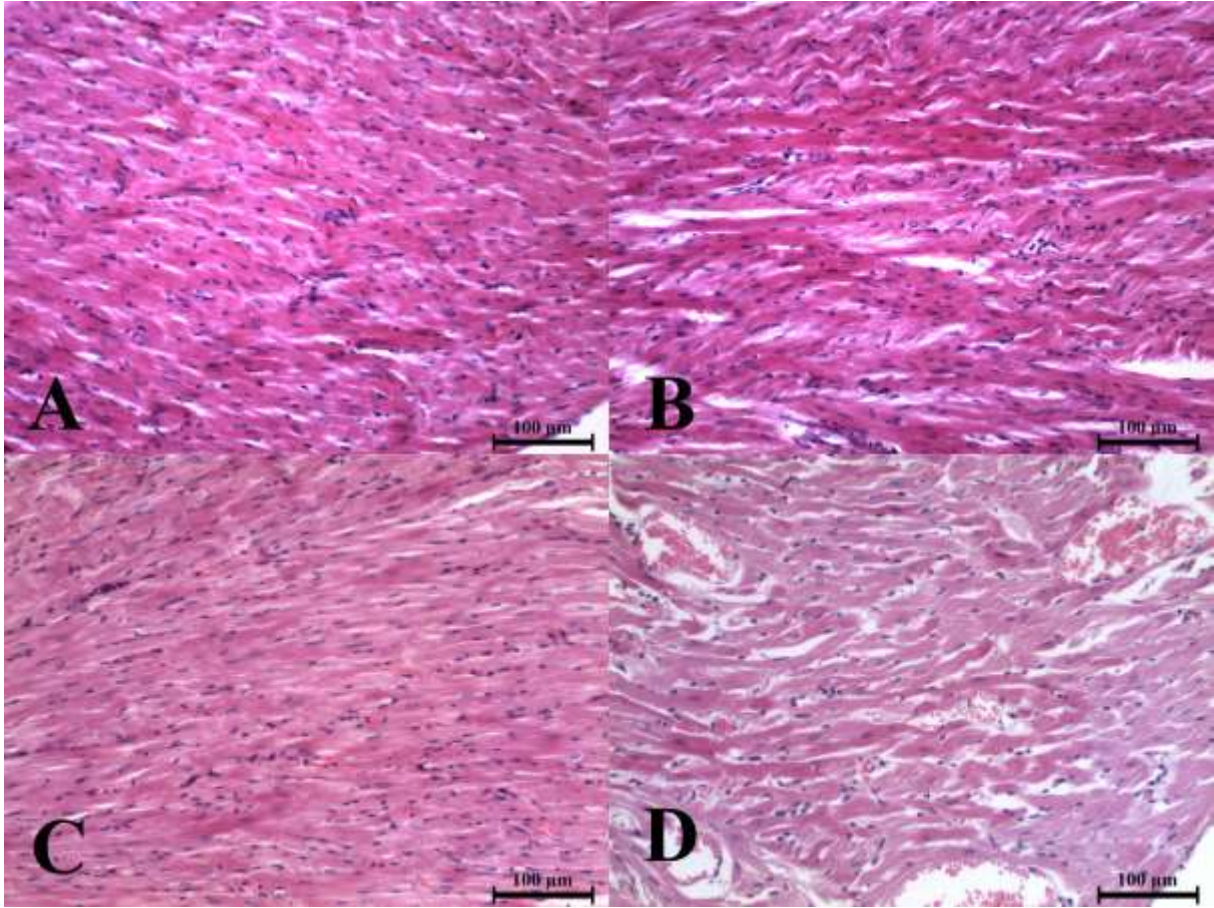
#### Histopatolojik bulgular

Kontrol gruplarındaki (5 ve 10 gün oral yolla Serum Fizyolojik (SF) verilen) ratlara ait miyokardiyal dokuların, düzenli miyofibril şeritlerine, Z çizgileriyle sınırlı sarkomerlere ve açık I ile koyu A bantlarına sahip normal bir histolojik yapıda oldukları gözlemlendi. Grup-IV'te (10 gün süreyle Favipiravir uygulanan) kalp dokularında, intersitysel alanda yaygın ve orta şiddette konjesyone, miyofibrillerin düzensiz görünümde, lokalden-diffüze değişen seviyelerde mononükleer hücre (makrofaj ve lenfositler) infiltrasyonlarına sahip olduğu tespit edildi. Ayrıca, kardiyak miyositlerde büzülme, perinükleer sarkomerik deplesyona uğramış miyofibriller (miyolizis), bazofilik miyofibriller dejenerasyon, koyu piknotik çekirdekli miyositler ile fokal fibroblast varlığı ve kapillar dilatasyon bulguları saptandı (Şekil-1). Grup-III'te (5 gün süreyle Favipiravir uygulanan) ise kalp dokularındaki lezyonların 10 gün süreyle favipiravir uygulanan gruptaki bulgulara kıyasla daha sınırlı kaldığı, fokal olduğu, düşük histopatolojik skor bulgusu gösterdiği belirlendi. Ayrıca, gruplara ait İRS ortalamaları Tablo-2' de verilmiştir. Buna göre, en yüksek İRS skoru tek başına 10 gün süreyle Favipiravir uygulanan IV. Grupta olduğu gözlenirken, daha düşük seviyede İRS skoru 5 gün süreyle Favipiravir uygulanan III. grupta saptandı ve Kontrol gruplarında ise İRS negatifti.

**Tablo-2.** Deneysel Gruplara Ait İnflamatuvar Reaksiyon (İRS) Skor ortalamaları







**Şekil-1.** Deneysel gruplara ait kalp dokularının histopatolojik görüntüsü, H&E boyama, X200 büyütme. Deneysel gruplar; A: Kontrol-I (IRS=0), B: Kontrol-II (IRS=0), C: Grup-III (5 gün süreyle Favipiravir uygulanan) (IRS=2), D: Grup-IV (10 gün süreyle Favipiravir uygulanan) (IRS=4).

#### 4. TARTIŞMA

Seçici bir RNA polimeraz inhibitörü ve geniş spektrumlu bir anti-viral ajan olan favipiravir, Covid-19 pandemik hastalığının ortaya çıkmasıyla birlikte çok yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Favipiravir, başlangıçta influenza virüslerinin tedavisi için geliştirilmiş olsa da, geniş spektrumlu antiviral aktivitesi ile RNA virüslerine karşı etkili olduğu için diğer viral hastalıkların tedavisinde de kullanılmaktadır [2,4]. Favipiravirin tekrar eden uygulamaları sonucunda yapılan çalışmalarda köpeklerde, ratlarda ve maymunlarda kırmızı kan hücrelerin azalması gibi hematopoitik sistem üzerine de ciddi etkilerin olduğu belirlenmiştir. Ayrıca karaciğer fonksiyon parametrelerden olan Aspartat amino transferaz (AST), Alkalın fosfataz (ALP), Alanin amino transferaz (ALT) ve total bilirubin ile heaptositlerde devakualizasyonda artış belirlenmiştir [10]. Testisler üzerine toksisitesi bulunan bu ajan, teratojenik etkilerinden dolayı gebelikte kullanılmamaktadır [6,11]. Favipiravir maddesinin bu özellikleri göz önüne alındığında vücutta kalp dokusu ve fonksiyonları için ciddi toksik etkilerinin olabileceği anlaşıldığından; çalışmamızda 5 ve 10 gün boyunca favipiravir uygulanan sıçanlarda oluşacak muhtemel kalp doku hasarının histopatolojik olarak araştırılması amaçlanmıştır.

Favipiravirin elektrokardiyografide QTc uzaması üzerindeki etkisinin belirsiz olduğu bildirilmiştir. Ancak bazı farmakodinamik çalışmalar pozitif bir ilişki olduğunu düşündürmektedir [12]. Favipiravirin insan eter-a-go-go geni (hERG) bloğu üzerindeki etkileri üzerine yapılan karşılaştırmalı çalışmalar, 1 mM konsantrasyonda hERG akımında hafif bir baskılanma gözlemlendiğini göstermiştir [13]. Favipiravir kaynaklı göğüs ağrısında bildirilmiştir [14] ve bir raporda sinüs bradikardisinin favipiravirin potansiyel bir yan etkisi olarak sunulmaktadır [15]. Bununla birlikte, insan kökenli pluripotent kök hücre kaynaklı kardiyomiyositlerde proaritmik risk ve kasılma bozukluğu açısından değerlendirildiğinde favipiravirin göz ardı edilebilir etkileri gözlenmiştir [16]. Favipiravirin son yıllarda yaygın olarak kullanılmaya başlanmasından bu yana, ilacın yan etkileri hakkında yayınlanan raporlar çoğunlukla kardiyotoksikite

üzerindedir. Bu nedenle, bu çalışmada favipiravirin yan etkilerini araştırmak için kardiyak miyositlerin incelenmesi uygun görülmüştür.

Klinik olarak, karaciğer hasarını gösteren bozulmuş karaciğer fonksiyon testleri, favipiravirin sıklıkla gözlenen kritik bir yan etkisi olarak kabul edilmektedir [17,18]. Benzer şekilde, 200 mg/kg dozunda favipiravirin beş gün boyunca oral olarak uygulandığı sıçanlarda AST, ALT, üre, kreatinin ve C-reaktif protein (CRP) konsantrasyonlarının serum seviyeleri yükselmiş ve hepatorenal hasar histolojik olarak ortaya konmuştur [19]. Ayrıca sıçanlarda 10 gün boyunca 200 mg/kg dozunda oral favipiravir uygulamasının eritrositleri, lenfositleri ve monositleri baskıladığı gösterilmiştir [20]. Histopatolojik analizlerde, Kırım-Kongo kanamalı ateşi hastalığı virüsü ile enfekte olmuş ve Favipiravir uygulanan farelerde akciğer, kalp, böbrek ve beyin dokusunda immunohistokimyasal olarak belirgin bir farklılık ortaya konmamıştır. Ancak kalp, iskelet kası, böbrekler, beyin ve kırmızı kan hücrelerinde AST seviyeleri açısından artış olduğu bildirilmiştir [21]. Ayrıca Favipiravir maddesinin kalp ritmini etkileyerek Q-T dalga aralığında uzamaya neden olabildiği saptanmıştır [22]. Çalışmamızda kalp dokusunda histopatolojik olarak ortaya koyduğumuz alteratif değişikliklerin varlığı, 200 mg/kg dozda 5 ve 10 gün sürelerle uygulanan favipiravirin yan etkilerinin, QT dalgası uzaması, enzimatik ve biyokimyasal değişikliklerden fazla olduğuna işaret etmektedir.

## 5. SONUÇ

Bu çalışmada favipiravirin sağlıklı sıçanlarda kalp dokusu üzerindeki toksisitesi histopatolojik yönden değerlendirildi. Favipiravir, SARS-CoV-2 ile enfekte vakaların semptomatik tedavisinde değerli bir ilaç olarak ortaya çıkmaktadır. Ancak, bu ilaç koşulsuz olarak önerilmeden önce kalp dokusu hasarlarının ciddiyetini ve ilgili mekanizmaları belirlemek için daha fazla araştırmaya gereksinim vardır. Ayrıca, favipiravir tedavisi ile kardiyak toksite arasındaki ilişkinin daha kapsamlı belirlenebilmesi için, tekrarlayan ve farklı dozlarda favipiravir uygulaması ile birlikte daha kapsamlı histopatolojik, immunohistokimyasal ve serolojik incelemeler gereklidir.

## 6. TEŞEKKÜR

Bu çalışma "Bingöl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi" tarafından BAP-SHMYO.2021.003 proje numarası ile çok disiplinli araştırma projesi olarak desteklenmiştir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Furuta Y, Gowen BB, Takahashi K, et al. Favipiravir (T-705), a novel viral RNA polymerase inhibitor. *Antiviral research*. 2013;100(2):446-454.
2. Musa S. Hepatic and gastrointestinal involvement in coronavirus disease 2019 (COVID-19): What do we know till now? *Arab Journal of Gastroenterology*. 2020;21(1):3-8.
3. Mendenhall M, Russell A, Juelich T, et al. T-705 (favipiravir) inhibition of arenavirus replication in cell culture. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2011;55(2):782-787.
4. Goldhill DH, Te Velthuis AJ, Fletcher RA, et al. The mechanism of resistance to favipiravir in influenza. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2018;115(45):11613-11618.
5. Furuta Y, Takahashi K, Shiraki K, et al. T-705 (favipiravir) and related compounds: Novel broad-spectrum inhibitors of RNA viral infections. *Antiviral research*. 2009;82(3):95-102.
6. Furuta Y, Komeno T, Nakamura T. Favipiravir (T-705), a broad spectrum inhibitor of viral RNA polymerase. *Proceedings of the Japan Academy, Series B*. 2017;93(7):449-463.
7. DAR BPW, Öksüz Z, ALGÜL Ö. Antiviral ilaçlardaki gelişmeler ve değerlendirilmesi. *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Dergisi*. 2019;9(2):160-170.
8. Suvarna KS, Layton C, Bancroft JD. Bancroft's theory and practice of histological techniques E-Book. Elsevier health sciences; 2018.
9. Wang Y, Zhang L, Zhao X, et al. An experimental study of the protective effect of simvastatin on sepsis-induced myocardial depression in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2017;94:705-711.

10. Chemicals T. Pharmaceuticals and medical devices agency: avigan (favipiravir) review report. 2022.
11. Delang L, Abdelnabi R, Neyts J. Favipiravir as a potential countermeasure against neglected and emerging RNA viruses. *Antiviral research*. 2018;153:85-94.
12. Agrawal U, Raju R, Udwardia ZF. Favipiravir: A new and emerging antiviral option in COVID-19. *Medical Journal Armed Forces India*. 2020;76(4):370-376.
13. Michaud V, Dow P, Al Rihani SB, et al. Risk assessment of drug-induced long QT syndrome for some COVID-19 repurposed drugs. *Clinical and Translational Science*. 2021;14(1):20-28.
14. Ivashchenko AA, Dmitriev KA, Vostokova NV, et al. AVIFAVIR for treatment of patients with moderate COVID-19: interim results of a phase II/III multicenter randomized clinical trial. *medRxiv*. 2020.
15. Szigeti J. Sinusbradycardia mint lehetséges favipiravir-mellékhatás. *Orvosi Hetilap*. 2022;163(7):267-270.
16. Yanagida S, Satsuka A, Hayashi S, et al. Comprehensive cardiotoxicity assessment of COVID-19 treatments using human-induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. *Toxicological Sciences*. 2021;183(1):227-239.
17. Doi Y, Hibino M, Hase R, et al. A prospective, randomized, open-label trial of early versus late favipiravir therapy in hospitalized patients with COVID-19. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2020;64(12):e01897-20.
18. Udwardia ZF, Singh P, Barkate H, et al. Efficacy and safety of favipiravir, an oral RNA-dependent RNA polymerase inhibitor, in mild-to-moderate COVID-19: A randomized, comparative, open-label, multicenter, phase 3 clinical trial. *International Journal of Infectious Diseases*. 2021;103:62-71.
19. Kara A, Yakut S, Caglayan C, et al. Evaluation of the toxicological effects of favipiravir (T-705) on liver and kidney in rats: biochemical and histopathological approach. *Drug and Chemical Toxicology*. 2022:1-11.
20. ATÇALI T, YAKUT S, ÇAĞLAYAN C, et al. Effects of favipiravir on hematologic parameters and bone marrow in the rats. *Journal of Experimental and Clinical Medicine*. 2022;39(1):156-159.
21. Oestereich L, Rieger T, Neumann M, et al. Evaluation of antiviral efficacy of ribavirin, arbidol, and T-705 (favipiravir) in a mouse model for Crimean-Congo hemorrhagic fever. *PLoS neglected tropical diseases*. 2014;8(5):e2804.
22. Naksuk N, Lazar S, Peeraphatdit T. Cardiac safety of off-label COVID-19 drug therapy: a review and proposed monitoring protocol. *European Heart Journal: Acute Cardiovascular Care*. 2020;9(3):215-221.

**FARELERDE DENEYSSEL AA AMİLOİDOZİS MODELİNDE DALAK DOKUSUNUN  
PATOMORFOLOJİK VE İMMUNOHİSTOKİMYASAL OLARAK İNCELENMESİ**  
**PATHOMORPHOLOGIC AND IMMUNOHISTOCHEMICAL INVESTIGATION OF  
SPLEEN TISSUE IN EXPERIMENTAL AA AMYLOIDOSIS MODEL IN MICE**

*Aykut ULUCAN<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Bingöl Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü,  
Bingöl, Türkiye.*

<sup>1</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8844-8237>*

**ÖZET**

AA Amiloidoz, bir akut faz proteini olan Serum Amiloid A (SAA)'nın yıkılma ürünlerinin çözünmeyen amiloid fibrilleri şeklinde birikmesiyle karakterize bir hastalıktır. Kronik inflamatuvar koşullar altında, Tümör Nekrozis Faktörü-alfa (TNF- $\alpha$ ), İnterlökin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) ve İnterlökin-6 (IL-6) gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin salınımı artar ve bu da Serum Amiloid A seviyesinde artışa neden olur. Kortikosteroid ilaçlardan biri olan metilprednizolon, kronik inflamasyonun baskılanması ve/veya tedavisi için kullanılan anti-inflamatuvar ve immunosupresif etkilere sahip bir ilaçtır. Bu çalışmada, deneysel olarak AA amiloidozis oluşturulan farelerde metilprednizolon uygulamasının dalak dokusunda SAA, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 düzeyleri üzerindeki etkisinin immunohistokimyasal ve histopatolojik olarak araştırılması ile AA amiloidozise karşı metilprednizolonun potansiyel terapötik etkilerinin incelenmesi amaçlandı.

Farelere sırasıyla intraperitoneal (IP) ve subkutan (SQ) yolla Grup-I (C-IP) ve Grup-II (C-SQ)'ye, 0,3 ml steril serum fizyolojik; Grup-III (CFA-IP) ve Grup-IV (CFA-SQ)'e, AA Amiloidozis indüksiyonu için 0,3 ml Comple Freund's Adjuvant (CFA)-Kazein emülsiyonu uygulandı. Grup-V (CFAM-IP) ve Grup-VI (CFAM-SQ)'ya da 0,3 ml CFA-Kazein emülsiyonu ile birlikte tedavi amacıyla 10 mg/kg dozda metilprednizolon verildi. Çalışma sonunda dalak dokusu örneklerinde SAA, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 düzeyleri immünohistokimyasal olarak, amiloid birikimleri de histopatolojik olarak değerlendirildi.

İntraperitoneal CFA-Kazein emülsiyonu uygulamasının, farelerin dalak dokularında AA amiloidozis oluşmasında ve SAA, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ile IL-6 düzeylerinin artışında etkili olduğu saptandı. Dalak dokusunda SAA, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 seviyelerinin artması ile amiloid fibril birikim şiddeti arasında bir paralellik gözlemlendi. Metilprednizolonun uygulanmasının dalak dokusunda hem TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 düzeylerinin azalmasında hemde amiloid fibril oluşumunun engellenmesinde olumlu bir etkiye sahip olduğu belirlendi. Ancak, SAA düzeylerinin azaltılmasında yetersiz kaldığı görüldü.

Sonuç olarak, SAA, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmaktadır ve bu durumda AA amiloidozis oluşumunda önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca, AA amiloidozisin metilprednizolon aracılı baskılanması, amiloid fibril oluşum ve yıkım mekanizmasının aydınlatılması ile SAA, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 düzeyleri arasındaki ilişkinin belirlenmesi için tekrarlayan ve farklı dozlarda metilprednizolon uygulamalarının yanı sıra daha kapsamlı histopatolojik, immünohistokimyasal ve serolojik incelemeler yapılmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Amiloidozis, İmmünohistokimya, Metilprednizolon, Serum Amiloid A, Sitokin

**ABSTRACT**

AA Amyloidosis is a disease characterized by the deposition of the degradation products of Serum Amyloid A (SAA), an acute phase protein, in the form of insoluble amyloid fibrils. Under chronic inflammatory conditions, the release of pro-inflammatory cytokines such as Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF- $\alpha$ ), Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), and Interleukin-6 (IL-6) increases, leading to an increase in Serum Amyloid A levels. Methylprednisolone, one of the corticosteroid drugs, is a drug with anti-

inflammatory and immunosuppressive effects used for the suppression and/or treatment of chronic inflammation. In this study, we aimed to investigate the effect of methylprednisolone administration on SAA, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-6 levels in spleen tissue immunohistochemically and histopathologically in mice with experimentally induced AA amyloidosis and to examine the potential therapeutic effects of methylprednisolone against AA amyloidosis.

Group-I (C-IP) and Group-II (C-SQ) mice were treated with 0.3 ml sterile saline, Group-III (CFA-IP) and Group-IV (CFA-SQ) mice were treated with 0.3 ml Complete Freund's Adjuvant (CFA)-Casein emulsion for AA Amyloidosis induction by intraperitoneal (IP) and subcutaneous (SQ) routes, respectively. Group-V (CFAM-IP) and Group-VI (CFAM-SQ) were also treated with 0.3 ml CFA-Casein emulsion and methylprednisolone at a dosage of 10 mg/kg. At the end of the study, SAA, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , and IL-6 levels were evaluated immunohistochemically and amyloid deposits were investigated histopathologically in spleen tissue samples.

Intraperitoneal administration of CFA-Casein emulsion was found to be effective in the formation of AA amyloidosis and increase in SAA, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , and IL-6 levels in the spleen tissues of mice. A parallelism was observed between the increase in SAA, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , and IL-6 levels and the severity of amyloid fibril deposition in spleen tissue. Methylprednisolone administration had a positive effect on the decrease of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , and IL-6 levels and the prevention of amyloid fibril formation in spleen tissue. However, it was found to be insufficient in decreasing SAA levels.

In conclusion, there is a significant correlation between SAA, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , and IL-6 levels and this situation plays an important role in the formation of AA amyloidosis. In addition, more comprehensive histopathologic, immunohistochemical, and serologic investigations should be performed in addition to repeated and different doses of methylprednisolone administration to determine the methylprednisolone-mediated suppression of AA amyloidosis, to elucidate the mechanism of amyloid fibril formation and degradation, and to determine the relationship between SAA, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , and IL-6 levels.

**Keywords:** Amyloidosis, Immunohistochemistry, Methylprednisolone, Serum Amyloid A, Cytokine

## 1. GİRİŞ

Amiloidozis, karakteristik fibril formlu amiloid proteinlerinin hücre dışı ve hücre içi birikimi olarak tanımlanır ve elektron mikroskopunda tipik bir X-ışını kırınım paternine sahip olup, Kongo kırmızısı boyama afinitesi ile polarize ışık altında elma yeşili yansıma gösterir [1]. Amiloidozis oluşumunda, çeşitli mekanizmaların neden olduğu konformasyonel değişiklikler sonucunda normalde çözünür proteinlerden oluşan agregatlar şeklindeki çözünmeyen amiloid fibrillerinin birikimi meydana gelir [2,3]. Sekonder (reaktif) amiloid A (AA) amiloidozis, enfeksiyöz, inflamatuvar veya daha nadir olarak neoplastik hastalıklarla ilişkili sistemik bir amiloidozis türü olup evcil, laboratuvar ve vahşi hayvanların yanı sıra insanlarda da görülmektedir [4-9]. Amiloidozlar öncü proteinleriyle tanımlanmakta olup çeşitli protein türleri (şu anda insanlarda 36 ve diğer omurgalılarda 10) sınıflandırılmıştır ve daha fazlasının ortaya çıkması beklenmektedir [1].

AA amiloidozis ile ilişkili öncü protein, esas olarak hepatositler tarafından sentezlenen bir akut faz reaktanı olan serum amiloid A'dır (SAA) [10]. Akut faz yanıtı sırasında, plazmadaki yüksek yoğunluklu lipoproteinlerden (HDL) SAA'da dramatik bir artış olur. Yüksek seviyelerdeki SAA, hayvanlarda ve insanlarda reaktif AA amiloidozisine yol açar [11]. Kronik enfeksiyonlar veya uzun süreli inflamatuvar koşullar, interlökin-6 (IL-6), IL-1 $\beta$  ve tümör nekroz faktörü- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin salınımını tetiklemek suretiyle SAA seviyelerinde binlerce kat artışa neden olur [8,12]. Yapısal değişikliklerden sonra, SAA'nın parçalanma ürünü, amiloid olarak bilinen  $\beta$  katlantılı bir yapı ile yüksek oranda organize protein fibrilleri halinde birikir [13-15]. SAA, amiloid fibrilleri olarak birikir ve doku yapısında hasara ve karaciğer, dalak, böbrek ve kalp dahil olmak üzere çeşitli organlarda işlev bozukluğuna neden olur [16-19].

Birçok amiloidozis vakası için hala etkili bir tedavi bulunmamaktadır. Bu nedenle, amiloidozisli hastaların çoğunda yaşam süresini uzatmak için semptomatik tedaviler ve ilaçlar kullanılmakta olup AA amiloidozis tedavileri başlıca SAA üretimini durdurmayı amaçlamaktadır [20,21]. Günümüzde amiloidozis oluşumunu tetikleyen mekanizmaları baskılayan çeşitli ilaçların kullanımı da halen

geliştirilmektedir [22]. Glukokortikoidler klinik uygulamalarının başlamasından bu yana, özellikle bağışıklık aracılı inflamatuvar bozukluklar olmak üzere çok çeşitli hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadırlar [23,24]. Sistemik kortikosteroid sınıfı ilaçlardan biri olan metilprednizolon, AA amiloidozisin baskılanması ve/veya tedavisinde ilk basamak tedavi olarak kullanılan anti-inflamatuvar ve immunosupresif etkilere sahip bir ilaçtır [21,24-28].

Bu çalışmada, AA amiloidozisli farelerde metilprednizolon uygulamasının amiloid fibril birikiminin ana odağı olan dalak dokusundaki SAA, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 düzeyleri üzerindeki etkisini araştırmayı ve AA amiloidozise karşı potansiyel terapötik etkilerini incelemeyi amaçladık.

## 2. MATERYAL VE METOT

### Deney Hayvanı, Ortamı ve Etik Kapsam

Bu çalışmada, Afyon Kocatepe Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Araştırma Merkezi'nden temin edilen 23-25 g ağırlığında ve 8 haftalık 120 adet dişi Swiss albino ırkı fare kullanıldı. Fareler deney başlamadan 1 hafta önce laboratuvar ortamına adaptasyon için hazırlandı. Fareler  $24 \pm 2$  °C'de ışık kontrollü bir ortamda (12 saat aydınlık/karanlık döngüsü) standart koşullar altında tutuldu. Fareler çalışma boyunca standart fare yemi (Korkutelim Yem, Türkiye) ile ad-libitum olarak beslendi ve düzenli olarak içme suyu verildi. Hayvanlar üzerindeki tüm uygulamalar Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 27.08.2010 tarih ve 66-10/140 sayılı izni ile gerçekleştirilmiştir.

### Comple Freund's Adjuvant ve Kazein Emülsiyonunun Hazırlanması

Steril Complete Freund's Adjuvant (CFA) (F5881-10X, Sigma, A.B.D.) ve steril Fosfatlı Tampon Solüsyonu (PBS) eşit miktarlarda karıştırıldı. Bu karışımın her bir mililitresine 8 mg toz Kazein (218680, Merck, Almanya) eklendi ve homojenize edildi. CFA-Kazein emülsiyonu, amiloidozis oluşturulacak farelere steril bir enjektör yardımıyla uygulandı [29].

### Deneyel Çalışma Dizaynı

Fareler çalışmanın başlangıcından 8. haftaya kadar yapılacak uygulamalara göre 6 eşit gruba (n: 20) ayrıldı. Kontrol grupları Grup-I (C-IP) ve Grup-II'deki (C-SQ) farelere çalışmanın 1. ve 3. haftalarında sırasıyla intraperitoneal (IP) ve subkutan (SQ) olarak 0,3 ml steril serum fizyolojik enjekte edildi. Amiloidozis gelişmesi planlanan Grup-III (CFA-IP) ve Grup-IV'e (CFA-SQ) çalışmanın 1. ve 3. haftalarında sırasıyla IP ve SQ olarak 0,3 ml CFA-Kazein emülsiyonu enjekte edildi. Çalışmanın 1. ve 3. haftalarında Grup-V (CFAM-IP) ve Grup-VI (CFAM-SQ) tedavi gruplarındaki farelere sırasıyla IP ve SQ yolla 0,3 ml CFA-Kazein emülsiyonu uygulandıktan sonra, Metilprednizolon (Depo-Medrol®, Pfizer, Türkiye) 10 mg/kg dozunda intramüsküler (IM) olarak verildi [29].

### Anestezi ve Nekropsi Uygulamaları ile Kan ve Doku Örneklerinin İşlenmesi

Tüm farelere IP yolla, ksilazin (Rompun, Bayer, Almanya) ve ketamin (Ketalar, Pfizer, Türkiye) kombinasyonu sırasıyla 10 ve 100 mg/kg dozlarda enjekte edilerek anestezi uygulandı. Tüm farelere IP yolla 10 mg/kg ksilazin (Rompun, Bayer, Almanya) ve 100 mg/kg ketamin (Ketalar, Pfizer, Türkiye) kombinasyonu enjekte edilerek anestezi uygulandı. Anestezi altındaki farelerden intrakardiyak ponksiyon yoluyla kan örnekleri toplandı ve ardından hayvanlar dekapitasyon yoluyla ötenazi edildi. Tüm hayvanların dalakları sistemik nekropsi sırasında çıkarıldı ve %10 tamponlu formaldehit içinde 48 saat süreyle fikse edildi. Doku örnekleri rutin histopatolojik işlemlerden sonra parafine gömüldü ve parafin bloklar oluşturuldu. Parafine gömülen dokular rotary mikrotom (RM 2155, Leica, Almanya) ile 5  $\mu$ m kalınlığında kesildi ve adeziv lamlara aktarıldı. Lamlar rutin histopatolojik inceleme için Hematoksilin ve Eozin (H&E) [30] ve amiloid birikiminin tespiti için alkalın Kongo kırmızısı yöntemiyle boyandı [31]. Son olarak, lamlar histopatolojik değişiklikler açısından incelendi ve doku kesitlerinde yeşil çift kırılma gösteren amiloid varlığı kontrol edildi ve görüntüleme sistemi uyarlanmış ve polarize filtre takılmış ışık mikroskobu (ECLIPSE 80i, C-SP 756526, Nikon, Japonya) ile fotoğraflandı. Çalışmamızda dalak dokusunun tercih edilmesinin başlıca nedeni, dalağın amiloid fibrillerinin biriktiği ve SAA ile pro-inflamatuvar sitokinlerin sentezlendiği başlıca kaynaklardan biri olmasıdır.

### Histopatolojik Analiz

Amiloid birikimleri polarize mikroskop altında 20x objektif büyütme ile doku kesitlerinde yeşil renkli çift kırıcılığa sahip yansıma göre tanımlandı. Kongo kırmızısı boyama bulguları skorları: amiloid birikimi yok (-/0); dalağın birkaç perifoliküler alanı ile sınırlı hafif düzeyde amiloid birikimleri (+1); dalakta yangın biçimde çok sayıda perifoliküler alandaki amiloid birikimleri orta düzeyde (+2); dalakta lenfoid folliküllerin tamamını kapsayan amiloid birikimleri şiddetli (+3) olarak tanımlandı [12,32]. Kongo kırmızısı boyaması ile amiloid birikimi pozitif olduğu bilinen pozitif kontrol kesitleri, incelenen örnekler ile her zaman paralel olarak işlendi.

### İmmunohistokimyasal Analiz

Parafin bloklardan alınan dalak dokusu kesitleri immün reaktiviteyi tanımlamak için kullanıldı. İmmunohistokimyasal incelemeler Streptavidin-Biotin Kompleks-Peroksidaz (SABC-P) yönteminin küçük modifikasyonları ile uygulandı. Bu amaçla, kesitler önce endojen peroksidaz blokajı için %3'lük hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Merck, 88597, Almanya) solüsyonunda bekletildi ve kesitlere sitrat tamponunda (pH:6.0) (Merck, 21545, Almanya) mikrodalga ile 20 dakika süreyle ısıyla indüklenen antijen geri kazanımı uygulandı. Dalak dokularında anti-SAA (Abcam, Ab2539, UK) (1/160 dilüsyon), anti-TNF- $\alpha$  (Boster, Pa-1079, USA) (1/500 dilüsyon), anti-IL-1 $\beta$  (Santa Cruz, Sc-7884, USA) (1/200 dilüsyon) ve anti-IL-6 (Abcam, Ab6672, UK) (1/500 dilüsyon) poliklonal antikorları kullanılarak hücrelerdeki immün reaktivite gösterildi. Protein blokajı, sekonder antikor (Goat anti-mouse IgG) ve enzim-anti-enzim kompleksi (SABC-P) uygulamaları konjugasyon kiti (Boster, Sa-2010, ABD) uygulama prosedürüne bağlı kalınarak gerçekleştirildi. Renk reaksiyonu için 3,3'-Diaminobenzidin (DAB) kromojen (Zymed, 0-2020, ABD) kullanıldı. Mayer hematoksilen (Sigma-Aldrich, 109249, Almanya) ile bir dakika süreyle zemin boyaması yapıldı ve lamalar PBS ile yıkandı, dehidre edildi, şeffaflaştırıldı ve entellan ile kapatıldı. Her uygulamada pozitif ve negatif kontrol preparatları kullanıldı [33]. Her gruptan rastgele örneklenen 5 dalak kesitinden rastgele seçilen 3 alan 20x objektif büyütme altında incelendi ve immün-pozitiflik intensitesi (IPI) şu şekilde skorlandı: boyanma yok: 0, hafif düzeyde boyanma: +1, orta düzeyde boyanma: +2, şiddetli düzeyde boyanma: +3 [13,34,35].

### İstatistiksel Değerlendirme

Dokulardaki amiloid birikiminin gruplara göre dağılımının istatistiksel değerlerinin belirlenmesinde SPSS 18.0.0 for Windows (Release 18.0.0, Copyright© SPSS Inc, The Apache Software Foundation, 1989-2009) yazılımı kullanıldı. Dokulardaki amiloid oluşum yoğunluğu verilerinin istatistiksel analizi "Ki-kare" testi ile yapıldı [36].

## 3. BULGULAR

### Klinik ve Makroskopik Bulgular

Klinik olarak, CFA ile tedavi edilen tüm hayvanlarda 12 saat boyunca depresyon belirtileri (yem-su tüketiminde azalma ve hareketsizlik) ve şiddetli karın ağrısı bulguları gözlemlendi. CFA'nın ikinci doz uygulamasından sonra CFA-IP grubundaki 4 farede ve CFA-SQ grubundaki 1 farede ani ölüm meydana geldi. Tüm gruplardaki hayvanların makroskopik bulguları deneyin 8. haftası sonunda değerlendirildi. Kontrol grubundaki farelerde herhangi bir makroskopik bulgu gözlenmezken, CFA-IP ve CFAM-IP gruplarında peritoneal-visseral fibrozis ve dalaklarda rölatif genişleme ve mumsu görünüm; CFA-SQ ve CFAM-SQ gruplarında ise CFA enjeksiyon bölgesinde subkutan kazeöz apseler tespit edildi.

### Histopatolojik ve İmmunohistokimyasal Bulgular

5 haftalık stimülasyondan sonra dalakta amiloid birikimleri tespit edilebildi. Amiloid pozitif dokulardaki amiloid birikintilerinin H&E ile açık pembe, eozinofilik karakterde boyandığı ile fibriller ve amorf bir yapıya sahip olduğu belirlendi. Kontrol gruplarında (C-IP ve C-SQ) dalakta herhangi bir histopatolojik bulgu gözlenmezken, CFA-Kazein emülsiyonu enjekte edilen farelerde dalak foliküllerinin marjinal bölgesinde ve perifoliküler alanlarda amiloid birikimleri görüldü. Metilprednizolon ile tedavi edilen farelerde dalakta amiloid birikimlerinin daha az olduğu gözlemlendi. Amiloid indüklenen gruplardaki farelerin dalaklarında çok çekirdekli fagositler ile megakaryositlerin sayısında artış tespit edildi (Şekil 1). Kongo kırmızısı ile boyanan dalak dokuları amiloid birikimi açısından değerlendirildi. Tüm grupların amiloid birikim skorları Tablo 1'de verilmiştir. Tüm gruplarda farklı amiloid birikim skorları

gözlenirken, özellikle CFA-IP ve CFAM-IP'de dalak dokularındaki amiloid birikimlerinin diğer gruplara göre daha şiddetli olduğu dikkat çekti. Amiloid pozitif dokulardaki amiloid birikimlerinin Kongo kırmızısı boyası ile kırmızıya boyanmış fibriller proteinöz karakterde olduğu ve amorf bir hücre dışı yapıya sahip olduğu belirlendi. Kongo kırmızısı pozitif boyanan amiloid birikintilerinin polarize filtre altında mikroskopik inceleme ile elma yeşili çift kırılma verdiği belirlendi. Çok şiddetli amiloid birikiminin olduğu örneklerde dalak dokusunun neredeyse tamamının amiloid birikimleri ile kaplandığı ve lenfoid foliküllerin kaybolduğu tespi edildi (Şekil 1).

Dalak dokularının immünohistokimyasal boyaması ile belirlenen anti-SAA, anti-TNF- $\alpha$ , anti-IL-1 $\beta$  ve anti-IL-6 antikorlarına ilişkin dokudaki immun-reaktivite, IPI skoru açısından değerlendirildi. Tüm grupların IPI skorları Tablo 2'de verilmiştir. Dalak dokularının immünohistokimyasal anti-SAA ve anti-TNF- $\alpha$  boyaması C-IP ve C-SQ gruplarında negatif ve IPI skorları sıfırdı (0). İmmünohistokimyasal anti-SAA, anti-TNF- $\alpha$ , anti-IL-1 $\beta$  ve anti-IL-6 boyanmalarında IPI skoru en yüksek CF-IP grubunda şiddetli (+3) düzeyde iken CFM-IP grubunda ise orta (+2) düzeydeydi. CF-SQ grubunda anti-SAA boyanması; CF-SQ ve CFM-SQ gruplarında anti-TNF- $\alpha$  boyanması; C-IP ve C-SQ gruplarında anti-IL- $\beta$  ve anti-IL-6 boyanması zayıf (+1) düzeydeydi. Dalak dokularının perifoliküler bölgelerinde, makrofaj ve lenfositlerle birlikte, immun-pozitif anti-SAA, anti-TNF- $\alpha$ , anti-IL-1 $\beta$  ve anti-IL-6 boyanmaları gözlemlendi ve immun-pozitif boyanan bu alan ve hücrelerin amiloid birikimleri ile paralellik gösterdiği belirlendi (Şekil 2).

**Tablo 1.** Dalak dokularının amiloid birikim şiddeti skorları\*

		<b>Negatif (0)</b>	<b>Hafif (1)</b>	<b>Orta (2)</b>	<b>Şiddetli (3)</b>	<b>Toplam</b>
<b>C-IP</b>	No / %	20 / %100	0 / %0	0 / %0	0 / %0	20 / %100
<b>C-SQ</b>	No / %	20 / %100	0 / %0	0 / %0	0 / %0	20 / %100
<b>CF-IP</b>	No / %	3 / %18,7	4 / %25	8 / %50	1 / %6,3	16 / %100
<b>CF-SQ</b>	No / %	16 / %84,2	3 / %15,8	0 / %0	0 / %0	19 / %100
<b>CFM- IP</b>	No / %	15 / %75	4 / %20	1 / %5	0 / %0	20 / %100
<b>CFM-SQ</b>	No / %	17 / %85	3 / %15	0 / %0	0 / %0	20 / %100
<b>Toplam</b>	<b>No / %</b>	<b>91 / %79,1</b>	<b>14 / %12,2</b>	<b>9 / %7,8</b>	<b>1 / %0,9</b>	<b>115 / %100</b>

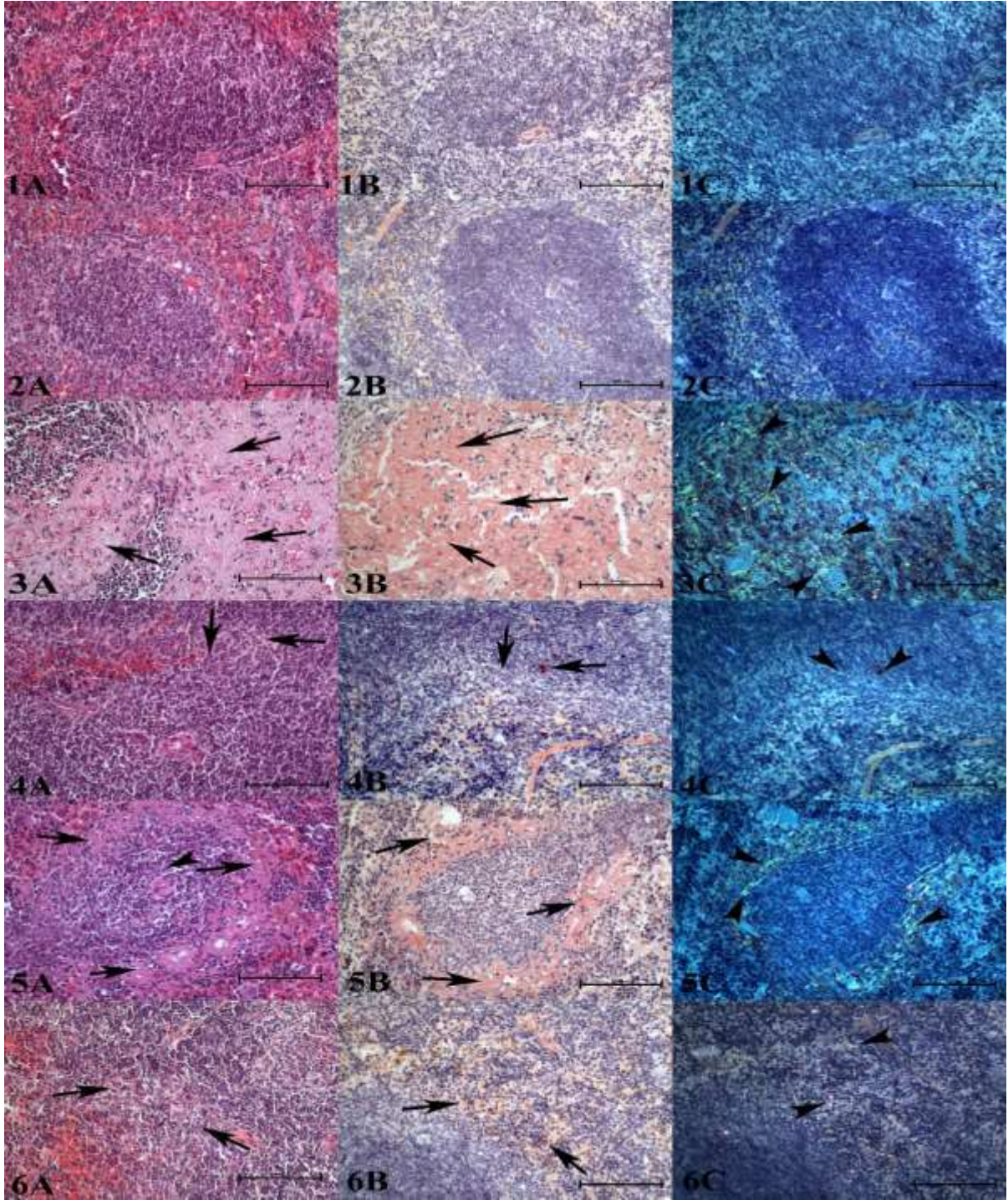
\*Amiloid birikim skorları arasındaki farklılıklar Ki-kare testi kullanılarak verilmiştir.



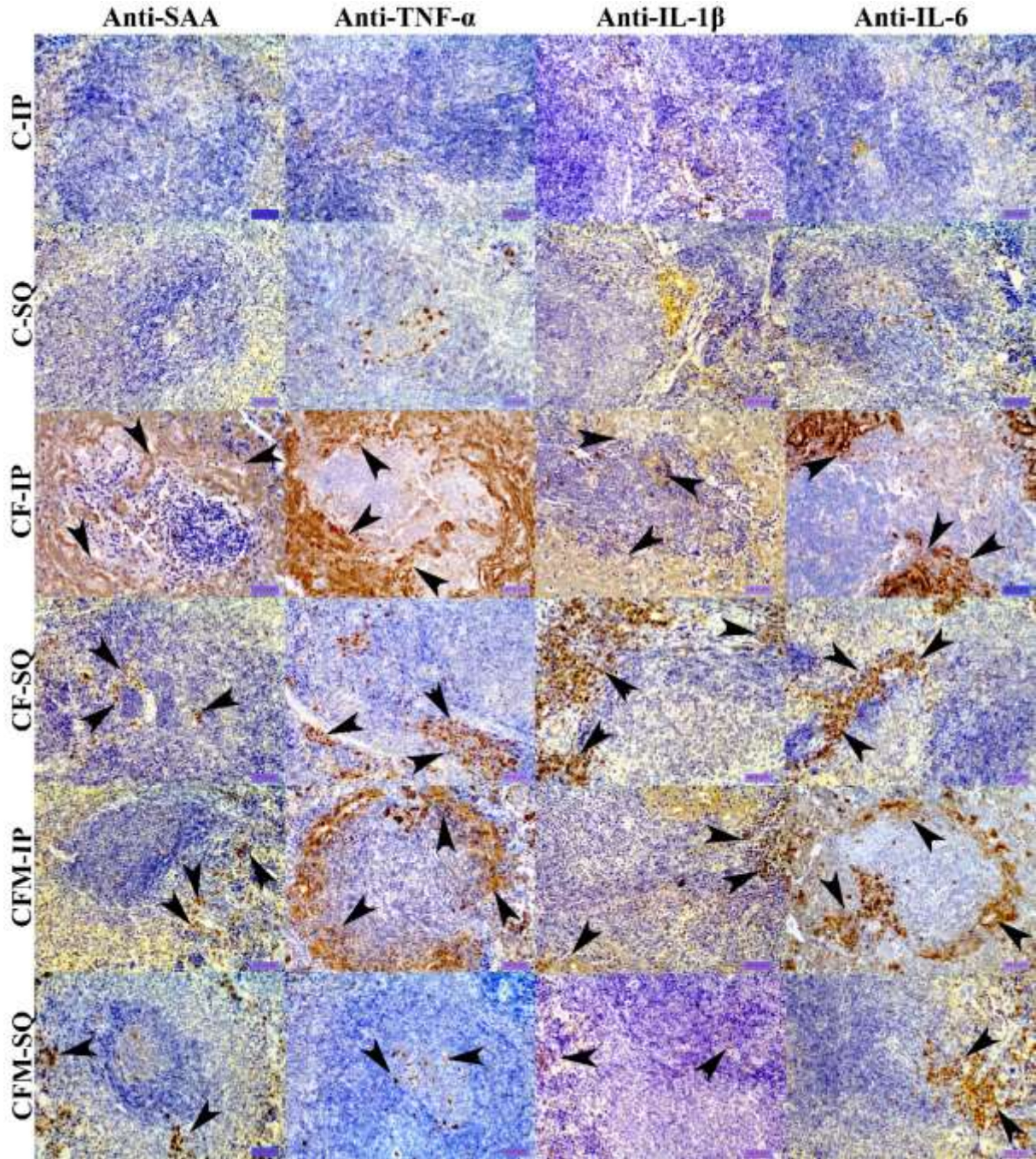
**Tablo 2.** Dalak dokularının immunohistokimyasal boyanma IPI skorları.

			<b>Negatif (0)</b>	<b>Hafif (1)</b>	<b>Orta (2)</b>	<b>Şiddetli (3)</b>	<b>Toplam</b>
<b>SAA</b>	<b>C-IP</b>	No / %	5 / %100	0 / %0	0 / %0	0 / %0	5 / %100
	<b>C-SQ</b>	No / %	5 / %100	0 / %0	0 / %0	0 / %0	5 / %100
	<b>CF-IP</b>	No / %	0 / %0	0 / %0	1 / %20	4 / %80	5 / %100
	<b>CF-SQ</b>	No / %	0 / %0	5 / %100	0 / %0	0 / %0	5 / %100
	<b>CFM- IP</b>	No / %	0 / %0	3 / %60	1 / %20	1 / %20	5 / %100
	<b>CFM-SQ</b>	No / %	0 / %0	4 / %80	1 / %20	0 / %0	5 / %100
<b>Toplam</b>	<b>No / %</b>	<b>10 / %33,3</b>	<b>12 / %40</b>	<b>3 / %10</b>	<b>5 / %16,7</b>	<b>30 / %100</b>	
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	<b>C-IP</b>	No / %	0 / %0	5 / %100	0 / %0	0 / %0	5 / %100
	<b>C-SQ</b>	No / %	0 / %0	5 / %100	0 / %0	0 / %0	5 / %100
	<b>CF-IP</b>	No / %	0 / %0	0 / %0	2 / %40	3 / %60	5 / %100
	<b>CF-SQ</b>	No / %	0 / %0	2 / %40	3 / %60	0 / %0	5 / %100
	<b>CFM- IP</b>	No / %	0 / %0	1 / %20	2 / %40	2 / %40	5 / %100
	<b>CFM-SQ</b>	No / %	0 / %0	4 / %80	1 / %20	0 / %0	5 / %100
<b>Toplam</b>	<b>No / %</b>	<b>0 / %0</b>	<b>17 / %56,6</b>	<b>8 / %26,7</b>	<b>5 / %16,7</b>	<b>30 / %100</b>	
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	<b>C-IP</b>	No / %	0 / %0	4 / %80	1 / %20	0 / %0	5 / %100
	<b>C-SQ</b>	No / %	1 / %20	4 / %80	0 / %0	0 / %0	5 / %100
	<b>CF-IP</b>	No / %	0 / %0	0 / %0	4 / %20	1 / %20	5 / %100
	<b>CF-SQ</b>	No / %	0 / %0	0 / %0	5 / %100	0 / %0	5 / %100
	<b>CFM- IP</b>	No / %	0 / %0	0 / %0	4 / %20	1 / %20	5 / %100
	<b>CFM-SQ</b>	No / %	0 / %0	3 / %60	2 / %40	0 / %0	5 / %100
<b>Toplam</b>	<b>No / %</b>	<b>1 / %3,3</b>	<b>11 / %36,7</b>	<b>16 / %53,3</b>	<b>2 / %6,7</b>	<b>30 / %100</b>	
<b>IL-6</b>	<b>C-IP</b>	No / %	0 / %0	4 / %80	1 / %20	0 / %0	5 / %100
	<b>C-SQ</b>	No / %	0 / %0	5 / %100	0 / %0	0 / %0	5 / %100
	<b>CF-IP</b>	No / %	0 / %0	0 / %0	1 / %20	4 / %80	5 / %100
	<b>CF-SQ</b>	No / %	0 / %0	1 / %20	4 / %80	0 / %0	5 / %100
	<b>CFM- IP</b>	No / %	0 / %0	0 / %0	4 / %80	1 / %20	5 / %100
	<b>CFM-SQ</b>	No / %	0 / %0	2 / %40	3 / %60	0 / %0	5 / %100
<b>Toplam</b>	<b>No / %</b>	<b>0 / %0</b>	<b>12 / %40</b>	<b>13 / %43,3</b>	<b>5 / %16,7</b>	<b>30 / %100</b>	

\* IPI skorları arasındaki farklılık Ki-kare testi kullanılarak verilmiştir.



**Şekil 1.** Dalak dokularının histopatolojisi. A: H&E boyama; B: Kongo kırmızısı boyama; C: Kongo kırmızısı boyamanın polarize görüntüsü (x200 büyütme, Ölçü barları: 100 µm). Kontrol gruplarında dalak dokularının normal histolojisi ve polarize görüntüde elma yeşili renkte çift yansıma (amiloid boyanması) yok (C-IP ve C-SQ sırasıyla 1A, B, C ve 2A, B, C). Sırasıyla CFA-IP ve CFAM-IP gruplarında oklarla gösterilen şiddetli ve orta düzeyde amiloid birikimleri (3A, 3B ve 5A, 5B). Hafif düzeyde amiloid birikimleri CFA-SQ ve CFAM-SQ gruplarında ok işaretleriyle gösterilmiştir (4A, 4B ve 6A, 6B). Sırasıyla CFA-IP ve CFAM-IP gruplarında ok başlarıyla gösterilen şiddetli ve orta düzeyde, elma yeşili renkte çift yansıma gösteren amiloid birikimleri, (3C ve 5C). Sırasıyla CFA-SQ ve CFAM-SQ gruplarında ok başlarıyla gösterilen hafif düzeyde, elma yeşili renkte çift yansıma gösteren amiloid birikimleri, (4C ve 6C).



**Şekil 2.** Deneysel grupların dalak dokularının immunohistokimyasal SABC-P boyama yöntemi ile Anti-SAA, Anti-TNF- $\alpha$ , Anti-IL-1 $\beta$  ve Anti-IL-6 immuno-reaktivitelerinin gösterilmesi (x200 büyütme, Ölçü barları: 50  $\mu$ m). DAB kromojen ile kahverengi boyanmış immuno-pozitif alanlar ok başları ile belirtilmiştir.

#### 4. TARTIŞMA

AA Amiloidozis, normal hücre ve organ fizyolojisinin bozulması sonucu başta karaciğer ve dalak olmak üzere bazı organlarda sentezlenen SAA'nın N-terminal fragmanlarının  $\beta$ -katlantı yapısında çözünmeyen amiloid fibrilleri şeklinde ekstraselüler ve intraselüler birikiminin neden olduğu organ disfonksiyonu ile karakterize ilerleyici, yıkıcı bir hastalıktır [1,18,22,37-39]. Amiloid A birikimleri, bir akut faz reaktanı olan yüksek dansiteli lipoproteinlerin bir apolipoproteini olan SAA'nın uzun süreli ve kalıcı aşırı doymuş durumuna bağlı olarak kronik bir inflamatuvar hastalığın sonucu olarak ortaya çıkar [12,40,41]. Memelilerde ve kuşlarda en yaygın rastlanan amiloidozis türü olan sistemik AA amiloidozis'te,

inflatuar uyarıların kaynağı çok çeşitli kronik hastalıklar, neoplazmlar ve idiyopatik nedenlerle ilişkilendirilmektedir [15,42,43].

Fareler ve kobaylar gibi deney hayvanlarında AA amiloidozis, inflamatuvar uyarıların uzun süreli uygulanmasıyla deneysel olarak da indüklenebilir [39,41]. Farelerde, AA amiloid birikimleri, önceden oluşturulan AA fibrilleri, amiloid arttırıcı faktör (AEF) [44], gümüş nitrat (AgNO<sub>3</sub>) [32], kazein veya lipopolisakkaritin (LPS) (Complete Freund's Adjuvant) çoklu subkutan veya intraperitoneal enjeksiyonları ile deneysel olarak indüklenebilir. Böylece plazmadaki SAA seviyesi önemli ölçüde artar ve bu yüksek seviye korunur [45]. AA amiloidozis oluşturulan hayvanlarda, dalak, karaciğer ve böbrek enzimlerinde klinik değışiklikler ve amiloid birikiminin şiddetine göre bu organlarda rölaf olarak büyümeler tespit edilmiştir [45-47]. Ayrıca, amiloid birikimine bağlı olarak dalak ve karaciğerde yırtılmalar veya yumuşamalar meydana gelebildiği ve bu organların kronik doku hasarına bağlı olarak sertleşebildiği de tespit edilmiştir [46]. Çalışmamızda, intraperitoneal yolla amiloidozis oluşturulan deney ve tedavi gruplarındaki farelerde, subkutan yolla amiloidozis oluşturulanlara kıyasla klinik bulguların ve makroskopik lezyonların daha şiddetli olduğu gözlenmiştir. Nekropsi bulgularına göre, intraperitoneal yolla indüklenen AA amiloidozisin subkutan prosedüre kıyasla daha şiddetli olduğu ve literatür verileriyle benzerlik gösterdiği belirlendi.

Farelerde, tek başına AgNO<sub>3</sub> uygulamasından sonra 16. günde amiloid birikimleri tespit edilmezken, AEF ve AgNO<sub>3</sub> ile indüklenen deneysel AA amiloidozisinde, dalakta enjeksiyondan sonraki 2. günden itibaren amiloid birikimleri tespit edilmiştir. Amiloidogenezin başlangıç noktasının, amiloid birikintilerinin Kongo kırmızısı boyama ile polarize ışıktta gösterilebilmesinden neredeyse 2 gün önce olduğu bildirilmiştir. Farelerde AEF ve AgNO<sub>3</sub> enjeksiyonundan sonraki 4. günde, dalak dokusunda amyloid birikimleri gözlenmiştir. Buna ek olarak, dalak amiloidozisi olmayan farelerde karaciğerde amiloid birikintilerinin gelişmediği bildirilmiştir [32,48]. Çalışmamızda, CFA-kazein emülsiyonunun ikinci enjeksiyonundan beş hafta sonra, IP yolla AA amiloidozis indüksiyonu sağlanan farelerde hafiften şiddetliye değışen seviyelerde amiloid birikimleri oluştuğu belirlendi. Diğer taraftan SQ yolla AA amiloidozis indüksiyonu IP yola kıyasla daha düşük seviyede ve oranda amiloid birikimlerine neden oldu. Elde ettiğimiz bulgular, amiloid fibril birikimlerinin ana hedef dokularından birinin de dalak olduğunu doğrulamaktadır.

Genellikle dalak ve karaciğerde başlayan AA amiloid fibrillerinin birikimi zamanla böbreğe, böbrek üstü bezine, gastrointestinal sisteme, periferik sinir sistemine, solunum sistemine ve cilt dokusuna yayılabilir [6,49]. AA amiloid fibrillerinin organlarda birikim miktarlarının en şiddetliden en düşük seviyeye doğru sırasıyla, dalak, karaciğer, böbrek ve bağırsak olduğu bildirilmiştir [13]. Makroskopik olarak, sistemik amiloidozda etkilenen dokular karakteristik olarak genişlemiş, sert ve mumsu görünümündedir [18]. Ayrıca, amiloidozisli farelerde biriken amiloid fibril miktarının karaciğer ve dalakta büyümeye ve abdominal yağda artışa neden olduğu da bildirilmiştir [50]. Amiloidozisli insanlarda splenomegali ile birlikte hepatomegalide görülebilmektedir [7,51]. Bu çalışmada, dalakta biriken amiloid fibrillerinin miktarına en yüksek oranda CFA-kazein emülsiyonunun IP yolla verilmesi sonucunda rastlandı. CFA-Kazein emülsiyonunun intraperitoneal enjeksiyonu, farelerde AA amiloidozunu indüklemek için subkutan enjeksiyondan daha başarılı bir yöntemdir.

Bir çalışmada, yüksek yağ ve kolesterol içeren yemlerle beslenen farelerde CFA-kazein emülsiyonunun IP enjeksiyonu sonrasında amiloidozis oluşum oranının %80 olduğu [50]; başka bir çalışmada ise tek başına kazein enjeksiyonu sonucunda amiloidozis oluşum oranının %100 olduğu bildirilmiştir [52]. Ayrıca kahverengi yumurtacı tavuklarda CFA-kazein emülsiyonu enjeksiyonu ile deneysel amiloid artropati oluşum oranının %100 olduğu tespit edilmiştir [27]. Bu çalışmada, dalak dokusunda en yüksek oranda amyloid fibril birikimi %81,3 ile CFA-IP grubunda bulunmuştur ve bu veri literatür verileriyle paralellik göstermektedir. CFA-IP grubunda, %18,7 oranında AA amiloidozis şekillenmemesinin nedeni bireysel duyarlılıktaki farklılık olabilir. Deney gruplarının dalak dokularındaki amiloid birikim oranlarındaki farklılıklar göz önüne alındığında, çalışmamız Cui, ve arkadaşlarının [53] dalak dokusunun AA amiloid fibrillerinin ana birikim bölgelerinden biri olduğu bulgusunu doğrulamaktadır. Tek başına CFA-kazein emülsiyonu uygulanan farelerde, diğer gruplara kıyasla dalakta belirgin bir amiloid fibril birikim artışı saptandı. Amiloid fibril birikimi olan farelerin dalaklarındaki rölaf genişleme ve mumsu görünüm AA amiloidozunun makroskopisi ile uyumluydu.

İnflamasyon, amiloid birikimlerinin oluştuğu dokuların histomorfolojisini değiştirebilir ve AA amiloidozunun ilerlemesine neden olabilir [11]. Sığırlarda AA amiloidozunun histolojik incelemelerinde, vücuttaki çeşitli organlarda şiddetli AA amiloid birikimlerinin oluşabileceği gösterilmiştir [39]. Amiloidozise bağlı semptomatik fonksiyon bozuklukları nadirdir ve klinik olarak geç ortaya çıkar; bu nedenle biyopsi tanı için altın standarttır. Dalakta amiloid fibril birikimleri perifoliküler ve intersitisyel alanlara yayılmaktadır [54]. Mikroskopik olarak, amiloid birikintileri eozinofilik ve camsı olan hücre dışı proteinöz birikimler olarak görülür. Kongo kırmızısı boyaması, polarize ışık altında elma yeşili çift kırılma ile amiloid için kırmızıdan turuncuya bir görünüm gösterir. Amiloid fibrilleri elektron mikroskobu kullanılarak da doğrulanabilir ve etkilenen dokuda 7,5 ila 10 nm çapında dallanmamış fibriller tanımlanabilir [18,22]. Farelerde indüklenen AA amiloidoziste, Kongo kırmızısı boyaması ile AA amiloidozis pozitif olan dalak dokularında tespit ettiğimiz amiloid fibril birikim skorlarındaki artış AA amiloidozisin patogeneğinde mononükleer inflamatuvar hücre reaksiyonlarının çok önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir. H&E ile boyanan amorf ve eozinofilik yapıların Kongo kırmızısı ile boyanması ve polarize filtre mikroskopta gözlenen elma yeşili renk ve çift yansıma amiloid birikimlerinin olduğunu kanıtlamıştır ve bu bulgular literatür verileri ile benzerlik göstermiştir. Bununla birlikte, çalışmamızda saptadığımız amiloid birikimlerinin öncelikle perifoliküler alanda meydana geldiği ve daha şiddetli birikime sahip örneklerde lenfoid folliküllerin amiloid fibril birikimleriyle dolması neticesinde lenfoid deplezyona uğradığı bulgusu Nyström ve arkadaşlarının bulguları ile uyumludur [32].

İnsanlardaki AA amiloidozisinde, plazma SAA konsantrasyonu amiloid birikimini belirlemede önemli bir faktördür [55]. Ayrıca, fare SAA'sından farklı amino asit dizilimlerine sahip proteinlerin (hatta sentetik peptitlerin) amiloidojenik fibril oluşturma aktivitesi sergilediği gözlemlenmiştir [56]. Dolaşımdaki SAA'nın çoğu ana plazma taşıyıcısı olan yüksek yoğunluklu lipoproteine (HDL) bağlanır ve böylece HDL taşınma yollarını yeniden düzenler ve hasarlı bölgelerden lipid temizlenmesini ve doku onarımı için lipid geri dönüşümünü teşvik eder. HDL'ye bağlanma SAA'daki  $\alpha$ -heliks oluşumunu stabilize eder ve onu proteoliz ve yanlış katlanmadan korur. SAA'nın yanlış katlanması AA amiloidoz oluşum mekanizmasının temelini oluşturur. Lipid yüzeyine bağlanma SAA'nın lipid taşınmasındaki normal işlevlerini desteklese de, SAA'nın hücre membranlarıyla karşılıklı etkileri AA amiloidozisindeki patolojik etkileri de modüle edebilir [15,18,38,57,58]. SAA genotipi ve inflamatuvar süreçlerin toplam süresi AA amiloidozis riskini önemli ölçüde artırmaktadır [59]. Çalışmamızda en yüksek AA amiloidozis oranı CFA-kazein emülsiyonunun IP yolla uygulandığı gruplarda görülmüştür. CFA-Kazein emülsiyonunun 2 doz IP yolla uygulamasından sonra AA amiloidozis oluşum oranının artması ve dalak dokusunda amiloid fibril birikiminin oluşması için 5 haftalık süre yeterlidir.

IHC, amiloid fibril tipini belirlemek için kullanılan en yaygın tekniktir [7,14]. Örneğin, sığır AA fibrillerinin fare AA fibrillerini üretebileceği IHC ile deneysel olarak gösterilmiştir [13]. Uzun süreli bir kinetik çalışmada, amiloid içeren fare dalak dokusundan çıkarılan homolog AA fibrilleri kullanılarak farelerde AA amiloidozisi indüklenmiş ve AA birikiminin en yüksek seviyelerinin AA birikintilerinin vücuttan doğal olarak temizlenmesini takip ettiği ortaya konmuştur. AA birikimi ve eliminasyonu sırasında sırasıyla pro- ve anti-inflamatuvar sitokin salınımı gözlenmiştir [13,39,60]. Amiloid fibrillerinin enjeksiyonundan sonra, yabani tip ve ApoA2 knock-down farelerin karaciğerlerinde ve dalaklarında AA amiloid birikimi gözlenmiştir. Enjeksiyondan itibaren geçen süre arttıkça, AA amiloid birikiminin dalak ve karaciğerden, mide, bağırsak, akciğer ve böbreğe doğru genişlediği gösterilmiştir [11]. Amiloidojenik stimülasyondan 24 saat sonra dalak dokusunun anti-SAA antikoru ile immünohistokimyasal boyanması neticesinde, reaksiyon ürünlerinin perifoliküler alanlarda ortaya çıktığı gösterilmiştir [61]. Dalak SAA'nın ana üretim yeri ve amiloid fibrillerinin önemli bir birikim yeri olduğundan, çalışmamızda dalak hedef doku olarak kabul edildi. İmmünohistokimyasal olarak, amiloid birikiminin şiddetinin, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 seviyelerinin CFA-IP grubunda diğer gruplara kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğunu saptadık. Bu bulgu, CFA-Kazein emülsiyonunun IP uygulamasının daha güçlü bir inflamatuvar süreçle sonuçlandığını ve amiloid indüklenme potansiyelinin oldukça başarılı olduğunu göstermiştir. İmmünohistokimyasal bulgularımıza göre, SAA, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6, AA amiloidozis oluşumunda önemli bir rol oynamaktadır. AA amiloidozis patogeneğinde, dokulardaki amiloid fibril birikiminin şiddeti ile dalakta SAA ve pro-inflamatuvar sitokinlerin IHC boyanma düzeyleri arasında doğru orantılı bir ilişki olduğu açıktır. Elde ettiğimiz bulgular, hayvanlarda deneysel amiloidoziste SAA, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 düzeylerinin arttığını bildiren çalışmaların bulgularıyla da tutarlıdır. Ayrıca,

metilprednizolon tedavisinden sonra dalak dokusunda SAA ve pro-inflamatuar sitokinlerin IHC boyanma düzeylerinde belirgin bir azalma saptadık.

İnflamasyon sırasında aktive olan makrofajlar ve monositler SAA'yı kısmen parçalayabilir ve AA amiloid fibril oluşumunu tetikleyebilir. Makrofajların amiloid fibrillerini fagosite edebildiği de bildirilmiştir [55,62,63]. Ekstraselüler amiloid fibrilleri, konağın hücresele bağışıklık sistemi (nötrofiller veya makrofajlar) tarafından kolayca tanınır. Bu bağışıklık hücreleri, amiloid fibrilleri ve ara ürünlerini tanıyan ve bunlara bağlanan reseptörlere sahiptir. Böylece pro-inflamatuar sitokinlerin üretimine yol açan bir sinyal dizisini aktive ederler. Bu özel amiloidojenik proteinin ekspresyonunun, pro-inflamatuar bir sitokin olan IL-6 tarafından düzenlendiği ve SAA seviyelerinin artmasına yol açtığı artık bilinmektedir [41]. Sitokinlerin ve makrofajların amiloid birikimi ve eliminasyonu ile immünolojik bir ilişkisi olabileceği öne sürülmüştür [13]. Fare ve tavuklarda deneysel olarak indüklenen amiloidozis modellerinde, IL-1 ve IL-6 sentezinin önemli ölçüde ve değişen derecelerde arttığı gösterilmiştir [12,43,64]. Dalak dokularının IHC boyanmasıyla belirlenen anti-SAA, anti-TNF- $\alpha$ , anti-IL-1 $\beta$  ve anti-IL-6 antikorlarına bağlı immünoreaktivite de amiloid fibril birikimi ile pro-inflamatuar sitokinler ve SAA arasında bir ilişki olduğunu düşündürmektedir. Dalak dokusundaki mononükleer hücrelerin pro-inflamatuar sitokin ve SAA ile ilişkili amiloid fibril oluşumunun patogenezinde rol oynadığı söylenebilir.

Amiloid fibril birikimlerinin neredeyse tüm organ sistemlerini etkileme potansiyeline sahip olması, sistemik amiloidozisin klinik özelliklerinin çok çeşitli olması ve nadiren tek bir amiloidozis tipinden kaynaklanması anlamına gelir ve bu da tanıda zorluklara ve gecikmelere yol açar. Amiloid fibril tipinin belirlenmesi, tedavi yönteminin seçimi için çok önemlidir [14]. Sistemik AA amiloidozis amiloid fibrillerinin oluşumu birçok açıdan araştırılmıştır, ancak tüm hücresele mekanizma henüz tam olarak aydınlatılamamıştır, özellikle amiloid oluşumunun hücre içinde başlayıp başlamadığı sorusu hala tartışmalıdır [8].

Amiloidozis oluştuktan sonra en iyi tedavi yaklaşımı, daha fazla amiloid oluşumunu önlemek için devam eden inflammatuar aktiviteyi durdurmaaktır. AA amiloidozisin moleküler patogenezinin anlaşılmasındaki son gelişmeler, amiloidojenik süreçte uygulanabilecek farklı terapötik seçeneklere yol açmıştır. Bunlar arasında amiloidojenik öncülün doğal yapısının stabilizatörleri, amiloid fibril parçalayıcıları, fibrilogen baskılayıcıları ve amiloid klirensinin koruyucuları yer almaktadır. Yapısal temelli ilaç tasarımı, gen terapisi ve immünoterapi gibi yenilikçi farmakolojik stratejilerin yanı sıra yeni keşfedilen anti-amiloid özelliklere sahip eski, güvenli ilaçların yeniden kullanımı şu anda çalışılmakta ve klinik olarak gelişmektedir [20,22,26]. Amiloid birikintilerinin varlığını kanıtlamanın yanı sıra, tedaviyi yönlendirmek için mevcut amiloid fibrilinin türünü belirlemek de çok önemlidir [7]. Klinik olarak, birçok ilaç AL ve AA amiloidozis tedavisinde çok etkili olabilir, ancak organ fonksiyonlarında bozulmaya neden olabildikleri için genellikle iyi tolere edilememektedir. Amiloidoz hastalarında yanıtın değerlendirilmesi, tedavinin ilk olarak amiloid öncü protein sentezinin baskılanması ve ikinci olarak amiloidozlu organlarının işlevi üzerindeki etkilerinin bir arada değerlendirilmesini kapsar. Esas olarak AA amiloidozise neden olan inflammatuar hastalığın tedavi edilmesi yoluyla SAA üretiminin ve seviyesinin azaltılması, AA amiloidozisin yönetilmesinde kilit öneme sahiptir, ancak bu bazı amiloidozis türleri için henüz mümkün değildir [20,21,26]. Çok daha güçlü anti-inflamatuar ilaçlar artık tedavi için mevcut olduğundan bu daha başarılı sonuçlar sağlayabilir [59]. Amiloidozis oluşturulan CFA-IP ve SQ gruplarıyla karşılaştırıldığında, metilprednizolon ile tedavi edilen CFAM-IP ve SQ gruplarında dalak TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 IHC boyama seviyelerinin baskılandığı tespit edilmiştir. Çalışmamızda SAA ile TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 ile ilişkili IHC bulgular, bu pro-inflamatuar sitokinlerin AA amiloidoz patogenezi üzerindeki etkilerini ortaya koymaktadır.

AA amiloidozis tedavisinde kortikosteroidlerin etkinliği halen tartışmalıdır [37,41]. Kortikosteroidler, C-reaktif protein (CRP) ve SAA sentezi dahil olmak üzere akut faz reaksiyonlarındaki artış baskılayabilir. İnsan hepatosit kültürlerinde, bazı kortikosteroidlerin SAA üretimini uyardığı ancak CRP üretimini uyardığı bulunmuştur [65]. AA amiloidozisli hastaların sitotoksik ilaçlarla tek başına veya sentetik bir glukokortikoid olan prednizolon ve kortizol türevleriyle birlikte tedavisi uygun görülmektedir [25]. Bazı çalışmalar SAA sentezinin indüksiyonunda glukokortikoidlerin ve sitokinlerin sinerjik bir etkisi olduğunu öne sürmektedir [37,41]. Amiloidozis indüklenen gruplardaki amiloid birikiminin şiddeti, metilprednizolonla tedavi edilen gruplara kıyasla belirgin oranda daha yüksekti. Bu

bulgu, metilprednizolonun etkisini SAA sentezini baskılamaktan ziyade öncelikle fibrilogenezi inhibe ederek gösterdiğini düşündürmektedir. Çalışmamızda, metilprednizolon ile tedavi edilen gruplardaki IHC SAA boyanma düzeyleri diğer gruplara kıyasla nispeten daha yüksekti. Bu da metilprednizolonun etkisini muhtemelen öncelikle pro-inflamatuar sitokinlerin sentezinin baskılanması yoluyla gösterdiğini düşündürmektedir.

AA amiloidozisi tedavi etmek için kortikosteroidler kullanılıyorsa, SAA seviyelerinin izlenmesi özellikle tavsiye edilir. AA amiloidozisli hastaların tek başına veya prednizolon ile birlikte sitostatik ilaçlarla tedavisi de iyi bir seçenektir [17]. Prednizolon, LPS ile tetiklenen monositlerin IL-1 üretimini önemli ölçüde inhibe etmiş ancak hepatositler tarafından sentezlenen SAA üretimini artırmıştır [66]. Deksametazonun borteomib ve siklofosamid ile kombinasyonunun, daha önceki tedavide yeterli sonuç elde edilemeyen hastalarda %90'dan fazla yanıt oranı ve %60 tam yanıt oranı sağladığı bildirilmiştir [7,67]. Örneğin, oral melfalan ve yüksek doz deksametazon ile tedavi, >7 yıl amiloidozlu hastaların prognozunda ve genel sağkalımında iyi sonuçlar göstermiştir [22]. Prednizolon, protein kaybettiren enteropatisi olan AA amiloidozis hastalarında da kullanılmaktadır [68]. AA amiloidoz tedavisinde birçok kortikosteroid ilaç kullanılmış olsa da, memelilerde metilprednizolon kullanımına ilişkin veriler çok azdır. Ayrıca, çalışmamızda metilprednizolonun pro-inflamatuar sitokin seviyeleri ve amiloid birikimleri üzerindeki baskılayıcı etkisi histopatolojik ve IHC olarak gösterilmiştir.

Sentetik bir glukokortikoid olan metilprednizolon, reseptör kompleksi pro-inflamatuar genlerin ve transkripsiyon faktörlerinin işlevini bloke ederken anti-inflamatuar gen ürünlerinin ekspresyonunu teşvik ederek pro-inflamatuar sitokinlerin sentezini baskılayarak etki eder. Bu nedenle, metilprednizolon AA amiloidozisin baskılanması ve/veya tedavisi amacıyla etkinlik göstermektedir [28]. Gastrointestinal AA amiloidozu olan hastalarda puls tedavisinde oral olarak verilen 1 g dozundaki metilprednizolonun [69] ve ülseratif kolit ile ilişkili AA amiloidozlu bir hastada 60 mg/gün dozundaki metilprednizolonun başarılı olduğu gösterilmiştir [70]. Romatoid artritli bir hastada AA amiloidozisin uzun süreli takibinde, 2 mg/gün dozunda metilprednizolon uygulamasının amiloidoz tedavisinde ve serum SAA ve IL-6 düzeylerinin düşürülmesinde başarılı olduğu bildirilmiştir [25]. Ayrıca, tavuklarda amiloid artropati modelinin akut ve geç fazında, serum SAA, IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TNF- $\alpha$  seviyelerindeki artışın paralel olduğu ve metilprednizolonun bu seviyeleri azaltmada baskılayıcı bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur [27,64]. Çalışmamızda, 10 mg/kg dozunda metilprednizolon uygulamasına bağlı olarak dalak dokusundaki IHC TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 boyanma düzeyleri önemli ölçüde azalmıştır. Pro-inflamatuar sitokin seviyelerindeki azalmaya paralel olarak, dalak dokusundaki amiloid fibril birikiminin şiddeti de azalmıştır. Dolayısıyla, dalak dokusundaki pro-inflamatuar sitokin ve SAA seviyeleri ile amiloid fibril birikim şiddeti birbiriyile ilişkilidir.

## 5. SONUÇ

CFA-Kazein emülsiyonunun intraperitoneal uygulaması, dalak dokusunda AA amiloidozis oluşumu ile SAA, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 seviyelerinin artışında etkilidir. Dalak dokusunda SAA seviyesinin artışı ile amiloid fibril birikiminin şiddeti ve TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 seviyeleri arasında paralellik bulunmaktadır. Metilprednizolonun 10 mg/kg dozda uygulanması, bir yandan TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 düzeylerini azaltırken, diğer yandan dalak dokusunda amiloid fibril oluşumunun engellenmesi üzerinde olumlu bir etki göstermektedir. Sonuç olarak, SAA, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6, AA amiloidozis oluşumunda önemli role sahiptir. Ayrıca, AA amiloidozis oluşumunun metilprednizolon ile baskılanması, amiloid fibril oluşum ve yıkım mekanizmasının aydınlatılması ve SAA, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 düzeyleri arasındaki ilişkinin belirlenmesi için, tekrarlayan ve farklı dozlarda metilprednizolon uygulaması ile birlikte daha kapsamlı histopatolojik, immünohistokimyasal ve serolojik incelemeler gereklidir.

## 6. TEŞEKKÜR

Bu çalışma "Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi" tarafından 27.08.2010 tarih, 67-10 referans ve 140 numarası ile doktora tez projesi olarak kısmen desteklenmiştir. Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Alper Sevimli'ye ve Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Merkezi'ne bu çalışmaya katkıları dolayısıyla için teşekkür ederim.

**7. KAYNAKLAR**

1. Benson MD, Buxbaum JN, Eisenberg DS, et al. Amyloid nomenclature 2018: recommendations by the International Society of Amyloidosis (ISA) nomenclature committee. *Amyloid*. 2018;25(4):215-219.
2. Westermark P, Benson MD, Buxbaum JN, et al. Amyloid fibril protein nomenclature--2002. *Amyloid: the international journal of experimental and clinical investigation: the official journal of the International Society of Amyloidosis*. 2002;9(3):197.
3. Merlini G, Bellotti V. Molecular mechanisms of amyloidosis. *New England Journal of Medicine*. 2003;349(6):583-596.
4. Jakob W. Spontaneous amyloidosis of mammals. *Veterinary Pathology*. 1971;8(4):292-306.
5. Landman W, Gruys E, Gielkens A. Avian amyloidosis. *Avian Pathology*. 1998;27(5):437-449.
6. Lachmann HJ, Goodman HJ, Gilbertson JA, et al. Natural history and outcome in systemic AA amyloidosis. *New England Journal of Medicine*. 2007;356(23):2361-2371.
7. Syed U, Ching Companioni RA, Alkhawam H, et al. Amyloidosis of the gastrointestinal tract and the liver: clinical context, diagnosis and management. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*. 2016;28(10):1109-1121.
8. Rezk T, Hawkins PN. Systemic Amyloidosis. *Textbook of Autoinflammation: Springer*; 2019. p. 267-289.
9. Sevimli A, Sevimli F, Şeker E, et al. Acute-phase responses in cattle infected with hydatid cysts and microbial agents. *Journal of helminthology*. 2015;89(4):471-479.
10. Kisilevsky R, Manley PN. Acute-phase serum amyloid A: perspectives on its physiological and pathological roles. *Amyloid*. 2012;19(1):5-14.
11. Yang M, Liu Y, Dai J, et al. Apolipoprotein A-II induces acute-phase response associated AA amyloidosis in mice through conformational changes of plasma lipoprotein structure. *Scientific reports*. 2018;8(1):1-11.
12. Chen H, Zhu D, Wang M, et al. Amyloid A amyloidosis secondary to avian tuberculosis in naturally infected domestic pekin ducks (*Anas platyrhynchos domestica*). *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 2019;63:136-141.
13. Muhammad N, Murakami T, Inoshima Y, et al. Longitudinal study of experimental induction of AA amyloidosis in mice seeded with homologous and heterologous AA fibrils. *Inflammation Research*. 2016;65(9):689-699.
14. Wechalekar AD, Gillmore JD, Hawkins PN. Systemic amyloidosis. *The Lancet*. 2016;387(10038):2641-2654.
15. Jayaraman S, Gantz DL, Haupt C, et al. Serum amyloid A forms stable oligomers that disrupt vesicles at lysosomal pH and contribute to the pathogenesis of reactive amyloidosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2017;114(32):E6507-E6515.
16. Hazenberg BP, Van Rijswijk MH. Where has secondary amyloid gone? *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2000;59(8):577-579.
17. Nakamura T. Amyloid A amyloidosis secondary to rheumatoid arthritis: an uncommon yet important complication. *Current Rheumatology Reviews*. 2007;3(3):231-241.
18. Gaffney P. *Amyloid A amyloidosis: the influence of genetics and seeding on pathogenesis and the utility of mass spectrometry*. SAGE Publications Sage CA: Los Angeles, CA; 2017.
19. Ilyna LY, Kozlov V, Sapozhnikov S. Hepatic Mast Cells in Mice with Experimental Amyloidosis. *Bulletin of experimental biology and medicine*. 2019;168(1):14-17.



20. Azevedo EP, Foguel D. The role of inflammation in amyloid diseases. *Amyloid Diseases: IntechOpen*; 2018.
21. Nakamura T. Developments in the Treatment of Amyloid A Amyloidosis Secondary to Rheumatoid Arthritis. *IntechOpen*; 2016.
22. Nuvolone M, Merlini G. Systemic amyloidosis: novel therapies and role of biomarkers. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2017;32(5):770-780.
23. Rhen T, Cidlowski JA. Antiinflammatory action of glucocorticoids—new mechanisms for old drugs. *New England Journal of Medicine*. 2005;353(16):1711-1723.
24. Bromberg L, Roufosse F, Pradier O, et al. Methylprednisolone-induced lymphocytosis in patients with immune-mediated inflammatory disorders. *The American journal of medicine*. 2016;129(7):746-752. e3.
25. Matsuda M, Morita H, Ikeda S-i. Long-term follow-up of systemic reactive AA amyloidosis secondary to rheumatoid arthritis: successful treatment with intermediate-dose corticosteroid. *Internal medicine*. 2002;41(5):403-407.
26. Ombrello AK. Modern therapies in AA amyloidosis. *Amyloid and Related Disorders: Springer*; 2015. p. 513-517.
27. Sevimli A, Misirlioglu D, Polat Ü, et al. The effects of vitamin A, pentoxifylline and methylprednisolone on experimentally induced amyloid arthropathy in brown layer chicks. *Avian Pathology*. 2005;34(2):143-149.
28. Oejo A, Correa R. Methylprednisolone. *StatPearls [Internet]: StatPearls Publishing*; 2021.
29. Bradunaite R, Povilenaite D, Leonaviciene L, et al. Experimental Amyloidosis Induced by Freund's Adjuvant and Casein in Two Mouse Strains. *Amyloid and Amyloidosis: CRC Press*; 2004. p. 231-234.
30. Suvarna KS, Layton C, Bancroft JD. Bancroft's theory and practice of histological techniques E-Book. *Elsevier health sciences*; 2018.
31. Dey P. Amyloid staining. *Basic and Advanced Laboratory Techniques in Histopathology and Cytology: Springer*; 2018. p. 109-111.
32. Nyström SN, Westermark GT. AA-Amyloid is cleared by endogenous immunological mechanisms. *Amyloid*. 2012;19(3):138-145.
33. Kalyuzhny AE. Immunohistochemistry. *Nature*, S ed. 2016:978-3.
34. Rizzardi AE, Johnson AT, Vogel RI, et al. Quantitative comparison of immunohistochemical staining measured by digital image analysis versus pathologist visual scoring. *Diagnostic pathology*. 2012;7(1):1-10.
35. Xing Y, Nakamura A, Korenaga T, et al. Induction of protein conformational change in mouse senile amyloidosis. *Journal of Biological Chemistry*. 2002;277(36):33164-33169.
36. Özdamar K. Paket programlar ile istatistiksel veri analizi (çok değişkenli analizler). *Kaan Kitabevi, Eskişehir*. 2004;574.
37. Sayed RH, Hawkins PN, Lachmann HJ. Emerging treatments for amyloidosis. *Kidney international*. 2015;87(3):516-526.
38. Sipe JD, Benson MD, Buxbaum JN, et al. Amyloid fibril proteins and amyloidosis: chemical identification and clinical classification *International Society of Amyloidosis 2016 Nomenclature Guidelines*. *Amyloid*. 2016;23(4):209-213.
39. Murakami T, Inoshima Y, Ishiguro N. Systemic AA amyloidosis as a prion-like disorder. *Virus research*. 2015;207:76-81.

40. Ayar Y, Ersoy A, Oksuz MF, et al. Clinical outcomes and survival in AA amyloidosis patients. *Revista brasileira de reumatologia*. 2017;57(6):535-544.
41. Pettersson T, Kontinen YT, Maury CPJ. Treatment strategies for amyloid A amyloidosis. *Expert opinion on pharmacotherapy*. 2008;9(12):2117-2128.
42. Murakami T, Muhammad N, Inoshima Y, et al. Experimental induction and oral transmission of avian AA amyloidosis in vaccinated white hens. *Amyloid*. 2013;20(2):80-85.
43. Sevimli A, Mısırlıoğlu D, Yağcı A, et al. The role of chicken IL-1 $\beta$ , IL-6 and TNF- $\alpha$  in the occurrence of amyloid arthropathy. *Veterinary research communications*. 2008;32(7):499-508.
44. Kennel SJ, Macy S, Wooliver C, et al. Phagocyte depletion inhibits AA amyloid accumulation in AEF-induced huIL-6 transgenic mice. *Amyloid*. 2014;21(1):45-53.
45. Röcken C, Shakespeare A. Pathology, diagnosis and pathogenesis of AA amyloidosis. *Virchows Archiv*. 2002;440(2):111-122.
46. Woldemeskel M. *Amyloidosis in Domestic Animals: Pathology, Pathogenesis, Gross and Microscopic Lesions and Clinical Findings. Amyloidosis-Mechanisms and Prospects for Therapy: IntechOpen*; 2011.
47. Woldemeskel M. A concise review of amyloidosis in animals. *Veterinary medicine international*. 2012;2012.
48. Lundmark K, Vahdat Shariatpanahi A, Westermark GT. Depletion of spleen macrophages delays AA amyloid development: a study performed in the rapid mouse model of AA amyloidosis. *PLoS One*. 2013;8(11):e79104.
49. Gaffney PM, Imai DM, Clifford DL, et al. Proteomic analysis of highly prevalent amyloid A amyloidosis endemic to endangered island foxes. *PloS one*. 2014;9(11).
50. Alasonyahlılar A. Diyetteki yağ ve kolesterolün sistemik amiloid A amiloidozis oluşumu üzerine etkisi: Bursa Uludag University (Turkey); 2008.
51. Özcan HN, Haliloğlu M, Sökmensüer C, et al. Imaging for abdominal involvement in amyloidosis. *Diagnostic and Interventional Radiology*. 2017;23(4):282.
52. Leonaviciene L, Povilenaite D, Bradunaite R, et al. Influence of dextran sulphate, fibrin, and ubiquitin on the development of casein-induced experimental AA amyloidosis in C57BL/6 mice. *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Sciences*. 2014:85-97.
53. Cui D, Kawano H, Hoshii Y, et al. Acceleration of murine AA amyloid deposition by bovine amyloid fibrils and tissue homogenates. *Amyloid*. 2008;15(2):77-83.
54. Picken MM. The pathology of amyloidosis in classification: a review. *Acta haematologica*. 2020;143(4):322-334.
55. Westermark GT, Fändrich M, Westermark P. AA amyloidosis: pathogenesis and targeted therapy. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*. 2015;10:321-344.
56. Sack GH. Serum amyloid A—a review. *Molecular Medicine*. 2018;24(1):1-27.
57. Frame NM, Gursky O. Structure of serum amyloid A suggests a mechanism for selective lipoprotein binding and functions: SAA as a hub in macromolecular interaction networks. *FEBS letters*. 2016;590(6):866-879.
58. Trieb M, Horvath A, Birner-Gruenberger R, et al. Liver disease alters high-density lipoprotein composition, metabolism and function. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2016;1861(7):630-638.
59. Blank N, Hegenbart U, Lohse P, et al. Risk factors for AA amyloidosis in Germany. *Amyloid*. 2015;22(1):1-7.

60. Muhammad N, Murakami T, Inoshima Y, et al. Long-term kinetics of AA amyloidosis and effects of inflammatory restimulation after disappearance of amyloid depositions in mice. *Clinical & Experimental Immunology*. 2015;181(1):133-141.
61. Cui D, Hoshii Y, Kawano H, et al. Experimental AA amyloidosis in mice is inhibited by treatment with triptolide, a purified traditional Chinese medicine. *International immunopharmacology*. 2007;7(9):1232-1240.
62. Lundmark K, Shariatpanahi AV, Westermark GT. Depletion of spleen macrophages delays AA amyloid development: a study performed in the rapid mouse model of AA amyloidosis. *PLoS One*. 2013;8(11).
63. Sponarova J, Nuvolone M, Whicher C, et al. Efficient amyloid A clearance in the absence of immunoglobulins and complement factors. *The American journal of pathology*. 2013;182(4):1297-1307.
64. Sevimli A, Bulbul T, Bulbul A, et al. Chicken amyloid arthropathy: serum amyloid A, interleukin-1 $\beta$ , interleukin-6, tumour necrosis factor- $\alpha$  and nitric oxide profile in acute phase (12th hour). *Polish Journal of Veterinary Sciences*. 2013;16(2).
65. Migita K, Yamasaki S, Shibatomi K, et al. Impaired degradation of serum amyloid A (SAA) protein by cytokine-stimulated monocytes. *Clinical & Experimental Immunology*. 2001;123(3):408-411.
66. Yamamoto Y, Friedman H. Steroids and infection. *Psychoneuroimmunology, Stress, and Infection*: CRC Press; 2020. p. 173-194.
67. Lane T, Gillmore J, Wechalekar A, et al. Therapeutic blockade of interleukin-6 by tocilizumab in the management of AA amyloidosis and chronic inflammatory disorders: a case series and review of the literature. *Clin Exp Rheumatol*. 2015;33(Suppl 94):S46-53.
68. Fushimi T, Takahashi Y, Kashima Y, et al. Severe protein losing enteropathy with intractable diarrhea due to systemic AA amyloidosis, successfully treated with corticosteroid and octreotide. *Amyloid*. 2005;12(1):48-53.
69. Sato H, Sakai T, Sugaya T, et al. Tocilizumab dramatically ameliorated life-threatening diarrhea due to secondary amyloidosis associated with rheumatoid arthritis. *Clinical rheumatology*. 2009;28(9):1113-1116.
70. Park SW, Jee SR, Kim JH, et al. Duodenal amyloidosis secondary to ulcerative colitis. *Intestinal research*. 2018;16(1):151.

**PROBİYOTİKLER VE MİKROENKAPSÜLASYON UYGULAMALARI**  
**PROBIOTICS AND MICROENCAPSULATION APPLICATIONS**

**Dr. Öğr. Üyesi Nurdan ARSLANKOZ İŞLEYEN**

<sup>1</sup> Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Bolu Teknik Bilimler Meslek Yüksek Okulu, Gıda İşleme, Bolu, Türkiye.

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6098-3809>

**Öğr. Gör. Dr. Muhammet Fatih İŞLEYEN**

<sup>2</sup> Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği, Bolu, Türkiye

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1307-1495>

**ÖZET**

Probiyotikler, intestinal sistemin mikrobiyal dengesini geliştirerek konakçı sağlığı üzerinde yararlı etkileri olan canlı mikroorganizmalardır. Probiyotik ürünler ise konakçı sağlığı üzerine olumlu etkileri olan mikroorganizmaları içeren, çeşitli vitamin ve enzimler ile desteklenerek kapsül veya tablet haline getirilmiş diyet destekleyicileridir. Gıdalarda bulunan probiyotik mikroorganizmaların tüketilmeden önce  $10^8$ - $10^9$  KOB/g aralığında canlı mikroorganizma içermesi ve kolona ulaşan en düşük canlı mikroorganizma miktarının  $10^6$ - $10^7$  KOB/g aralığında olması önerilmektedir. Probiyotikler gastrointestinal sistemdeki geçişi esnasında, karşılaştıkları düşük pH'nın ve safra tuzlarının olumsuz etkilerine maruz kalabilmektedir. Mikroenkapsülasyon, probiyotik mikroorganizmaları, ortamdaki olumsuz koşullardan koruyabilen ve belirli durumlarda çekirdek materyali kontrollü oranlarda serbest bırakan bir işlemdir. Mikroenkapsülasyon sürecinde, kaplanan materyal bir kapsül içerisine veya membrana dâhil edilmektedir. Mikroenkapsülasyonun amaçları arasında, mikroorganizmaların canlılığının devamının sağlanması, çevre koşulları ile etkileşiminin azaltılması, mikroorganizmaların istenilen koşullarda ortama salınımının sağlanması, istenmeyen koku ve tadın maskelenmesi, depolama sırasında tat ve koku kayıplarının önlenmesi bulunmaktadır. Mikroenkapsülasyon işleminde kullanılan kaplama materyalleri çeşitlilik göstermektedir. Bunlar arasında gam maddeleri (sodyum aljinat, karragenan, xanthan gum vb.); karbonhidratlar (nişasta, dekstrin, mısır şurubu); selülozlar (karboksimetil selüloz, metil selüloz, etil selüloz, nitro selüloz, asetil selüloz vb.); lipitler (mumlar, parafin, tristearin, sterik asit, monogliserit, balmumu, katı ve sıvı yağlar, katılaştırılmış yağlar.); inorganik materyaller (kalsiyum sülfat, silikat); proteinler (gluten, kazein, jelatin, albümin) bulunmaktadır. Aljinatlar kahverengi yosunlardan veya bakteriyel kaynaklardan elde edilen kaplama materyallerinden biridir. Aljinatlar; düşük maliyet, hafif jelleşme koşulları, biyoyuymululuk ve toksik olmaması nedeniyle mikroenkapsülasyon uygulamalarında en çok tercih edilen kaplama materyallerinden biridir. Mikroenkapsülasyon yöntemleri arasında koaservasyon, püskürterek kurutma, püskürtmeli soğutma ve dondurarak kurutma, akışkan yataklı kaplama, ekstrüzyon kaplama, kompleks oluşturma, santrifüjleme ile suyun uzaklaştırılması, döner süspansiyon separasyonu, kümeleme, kristalleri biraraya getirme, lipozom tutuklama, liyofilizasyon, arayüzey polimerizasyonu, sıcak erime gibi yöntemler vardır.

Probiyotiklerin mikrokapsülasyon yöntemleri ile kaplanması, probiyotikleri gastrointestinal sistemdeki geçişi esnasında, karşılaştıkları düşük pH'nın ve safra tuzlarının olumsuz etkilerinden korumaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Mikroenkapsülasyon, probiyotik, mikroorganizma.

**ABSTRACT**

Probiotics are live microorganisms that have beneficial effects on host health by improving the microbial balance of the intestinal tract. Probiotic products are dietary supplements containing microorganisms that have positive effects on host health, supplemented with various vitamins and enzymes, and made

into capsules or tablets. Probiotic microorganisms in foods should contain live microorganisms in the range of  $10^8$ - $10^9$  CFU/g before consumption. It is recommended that the lowest amount of live microorganisms of probiotics reaching the colon should be in the range of  $10^6$ - $10^7$  CFU/g. Probiotics may be exposed to the negative effects of low pH and bile salts they encounter during their passage in the gastrointestinal tract. Microencapsulation is a process that can protect probiotic microorganisms from negative conditions in the environment, releasing the core material at controlled conditions. In the microencapsulation process, the coated material is incorporated into a capsule or membrane. The objectives of microencapsulation are to maintain the viability of microorganisms, to reduce their interaction with environmental conditions, to release microorganisms to the environment under desired conditions, to mask undesirable odor and taste, to prevent loss of taste and odor during storage. The coating materials used in the microencapsulation process vary. These include gum substances (sodium alginate, carrageenan, xanthan gum, etc.); carbohydrates (starch, dextrin, corn syrup); celluloses (carboxymethyl cellulose, methyl cellulose, ethyl cellulose, nitro cellulose, acetyl cellulose, etc.); lipids (waxes, paraffin, tristearin, steric acid, monoglyceride, beeswax, fats and oils, solidified oils.); inorganic materials (calcium sulfate, silicate); proteins (gluten, casein, gelatin, albumin). Alginates are one of the coating materials obtained from brown algae or bacterial sources. Alginates; It is one of the most preferred coating materials in microencapsulation applications due to its low cost, light gelling conditions, simplicity, biocompatibility and non-toxicity. Microencapsulation methods include coacervation, spray drying, spray cooling and freeze drying, fluidized bed coating, extrusion coating, complexing, water removal by centrifugation, rotary suspension separation, aggregation, crystal aggregation, liposome arrest, lyophilization, interfacial polymerization, hot melt. The coating of probiotics with microencapsulation methods protects the probiotics from the negative effects of low pH and bile salts on probiotics during their passage in the gastrointestinal tract.

**Keywords:** Microencapsulation, probiotic, microorganism.

## 1. GİRİŞ

Probiyotikler, vücuda alındığında konakçının gastrointestinal mikroflorasına olumlu etkileri olan canlı mikroorganizmalardır (Kneifel vd., 1999). Probiyotik mikroorganizmaların istenilen olumlu etkiyi sağlayabilmeleri için, buldukları gıdaların işlenmesi ve raf ömrü süresince canlı kalabilmeleri ve belirli sayının üzerinde vücuda alınmaları gerekmektedir. Gıdalar tüketilmeden önce içerisinde bulunan probiyotik mikroorganizmaların  $10^8$ - $10^9$  KOB/g aralığında bulunması ve kolona ulaşan en düşük canlı mikroorganizma miktarının  $10^6$ - $10^7$  KOB/g aralığında olması tavsiye edilmektedir (Nazzaro vd., 2009).

Bağırsak mikrobiyotası, bağırsak homeostazının ve konakçının sağlığının korunmasına katkıda bulunduğundan, bağırsak mikrobiyotasının bileşimini ve işlevini olumlu yönde değiştirmeyi amaçlayan yöntemler önem kazanmaktadır. Bunlardan en yaygın olanı, hastalıkla ilişkili semptomları azaltarak veya ortadan kaldırarak hastanın belirli bir sağlık durumunu hedefleyen probiyotik tedavisidir (Kim vd., 2019). Probiyotiklerin tüketimi sonucunda, bağışıklık sisteminin güçlenmesi, kolon sağlığının iyileşmesi, kanserin önlenmesi, serum kolesterol seviyesinin düşmesi gibi sağlığa olumlu yönde etkileri olabileceği belirtilmektedir (Safi vd., 2021).

Probiyotik pazar analizlerine göre, gıda endüstrisinde mayalardan daha çok probiyotik bakteri suşları kullanılmaktadır. Probiyotik gıda üretiminde kullanılan bakteri suşları genellikle *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türlerine aittir ve bu alanda en bilinen maya türü ise *Saccharomyces cerevisiae boulardii*'dir (De Prisco ve Mauriello 2016).

Birçok probiyotik bakteri, insan sindirim sisteminin ilk bölümünden sağlıklı bir şekilde geçmemektedir. Bakteri hücreleri, midedeki düşük pH'nın yanı sıra pepsin, safra tuzları ve proteazların olumsuz etkilerine maruz kalabilmektedir (Phuong vd., 2021).

Mikroenkapsülasyon, probiyotiklerin fiziksel olarak korunması için yeni bir yöntemdir ve 0.2-5000 µm parçacık boyutu mikrokapsül olarak kabul edilir (Maleki vd., 2015).

Kapsülleme teknolojisi, son altmış yılda dikkat çekici bir şekilde gelişmiştir ve yalnızca nutrasötik, yiyecek ve içecek endüstrilerinde değil, aynı zamanda kozmetik ve kişisel bakım kategorilerinde de geniş uygulamala alanı bulmaktadır (Furuta ve Neoh 2021).

Mikroenkapsülasyon işlemi aşağıda belirtilen nedenlerle uygulanmaktadır;

- (1) Probiyotiklerin gastrointestinal sistemden geçişi esnasında midenin asidik koşullarına ve enzimatik safra koşullarının olumsuz etkilerine karşı hücre canlılığını korunmasında.
- (2) Starter kültür üretiminde.
- (3) Gıdaların tüketimine kadar probiyotik canlılığı yüksek ürün üretiminde.
- (4) Probiyotik ürünlerin duyuusal özelliklerinin korunmasında ve iyileştirilmesinde.
- (5) Kontrollü salınımda (Safi vd., 2021).

Mikrokapsüle edilmiş probiyotikler, tüketiciler tarafından sıklıkla tüketilen gıdalara eklenmektedir. Bunlar genellikle kefir veya sütlü tatlılar (dondurma) gibi ürünlerdir. Bu ürünler probiyotik bakteriler için iyi bir ortam görevi görse de canlılıklarının azalmasına neden olabilmektedir (Wang M vd., 2018).

Probiyotik bakterilerin mikronekapsülasyon işlemi ile korunmasında, birçok yöntem geliştirilmiş olup aljinatlar, proteinler, akasya gum, pektin, kitosan gibi birçok kaplama materyali kullanılmaktadır (Kowalska vd., 2022).

## 2. GIDA ENDÜSTRİSİNDE KULLANILAN MİKROENKAPSÜLASYON TEKNİKLERİ

### 2.1. Püskürtmeli Kurutma

Püskürtmeli kurutma, yaygın olarak kullanılan ve düşük maliyetli tekniklerden biridir. Gıda endüstrisinde, yağlar ve aromalar gibi aktif gıda bileşenlerinin mikrokapsüllemesinde püskürtmeli kurutma teknolojisi kullanılmaktadır. Püskürtmeli kurutmanın, yağlı aktif bileşiklerin işlenmesini kolaylaştırmak, çözünürlüğü, kararlılığı, lezzeti ve kontrollü salınım oranını arttırmak gibi birçok işlevi bulunmaktadır. Püskürtmeli kurutma yönteminde, kaplanacak olan materyal, kaplama materyali (modifiye nişasta, gum arabic, protein vd.) ile homojenize edilmektedir. Bu karışım besleme ünitesine konmakta ve nozuldan püskürtülmektedir. Sıcak hava ile temas eden mikrokapsüller kurutucunun toplama ünitesine düşmektedir. Püskürtmeli kurutucular ile, tipik olarak mikron boyutunda ürün üretmek için, besleme sıvısını kısa süreler içinde (15 ila 30 saniye) hızlı bir şekilde sıcak hava ile (170 ila 240 °C) muamele ederek çok çeşitli gıda uygulamalarında kullanılacak uygun kapsüller elde edilebilmektedir (Yan vd., 2022).

### 2.2. Püskürterek Dondurarak Kurutma Yöntemi

Püskürterek dondurarak kurutma yöntemi, ısıya duyarlı çekirdek malzemeler için uygun bir yöntemdir. Bu yöntemde sıvı besleme küçük damlacıklar haline getirilmektedir. Damlacıklar, sıvı nitrojenle dolu soğuk bir odaya püskürtülmekte ve dondurulmaktadır. Daha sonra dondurulan damlacıklar akışkan bir yatak içinde, ortam basıncında süblimleşmekte ve böylece mikro yapıları kapsüller üretilmektedir (Mehta vd., 2022).

Yöntemin düşük maliyetli olması, ısıya duyarlı materyaller için kullanılabilmesi avantajları arasında bulunmaktadır. Yöntemin dezavantajları arasında aktif materyalin hızlı salınımı ve kapsülleme işlemi sonunda düzgün olmayan parçacıklar ve değişken kapsülleme verimliliği sayılabilmektedir (Calderon-Oliver ve Ponce-Alquicira 2022).

### 2.3. Ekstrüzyon Yöntemi

Ekstrüzyon yönteminde, çekirdek materyal ve kaplama materyali emülsifiye edilmektedir. Damlalar, katılaştırıcı bir sıvı çözeltisine düşmekte, kaplama materyali sıvı ile temas ettiğinde sertleşmektedir. Kapsüller toplanıp kurutulduktan sonra, kaplama materyalinin çekirdeği tamamen sarması ile mikroenkapsüller elde edilmektedir (Safi vd., 2021).

Ekstrüzyon yöntemi ile oksijeni geçirmeyen bir bariyer sağlanmasından dolayı ürünün raf ömrü uzamakta ve oksidasyon engellenmektedir. Ekstrüzyon yöntemi ile kapsüllemeye çok sınırlı duvar

malzemelerinin mevcut olması ve bu metotla elde edilen büyük parçacıkların uygulamalarda sınırlı kullanımı, dezavantajları arasındadır (Kanat ve Gülel 2020).

#### 2.4. Emülsiyon Yöntemi

Emülsiyon teknikleriyle kapsülleme, düşük maliyeti, uygulama kolaylığı, kolay işlem koşulları gibi avantajlarından dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır (Ashwar vd., 2018). Probiyotiklerin emülsiyonla kapsülleme tekniğinde, dağılmış veya süreksiz fazlar olarak adlandırılan karışmayan iki fazın ve sürekli fazların karışımı söz konusudur. Dağınık faz, bir hidrokolloid (örneğin, önceden çözünmüş kalsiyum karbonat içeren aljinat) içeren küçük bir probiyotik süspansiyon hacminden oluşurken, sürekli faz; genellikle kanola yağı, mısır yağı, soya fasulyesi yağı, ayçiçeği yağı gibi büyük miktarda bitkisel yağlardan oluşmaktadır (Lu vd., 2018). Emülsiyonları stabilize etmek için sürekli faza bir emülsifier veya yüzey aktif madde eklenmekte, böylelikle daha küçük boyutlu mikropartiküllerin üretimi desteklenmektedir. Emülsifikasyon yoluyla aljinat kapsülleme işleminde, jelleşmeyi desteklemek için emülsifikasyondan sonra karışıma bir miktar organik asit, genellikle asetik asit eklenmektedir (Camalo-Silva vd., 2022).

#### 2.5. Koaservasyon Yöntemi

Koaservasyon, basit ve kompleks koaservasyon olarak kategorize edilmektedir. Basit koaservasyon, yalnızca bir duvar malzemesinin (polimer) devreye girdiği ve elektrolitlerin (sodyum sülfat) etkisiyle veya suyla karışabilen solvent olmayan bir maddenin (etanol) eklenmesiyle veya sıcaklığın artırılması/düşürülmesiyle aşamalandırıldığı anlamına gelmektedir (Napiórkowska ve Kurek 2022).

Kompleks koaservasyon, koaservatlar olarak bilinen küçük kolloidal parçacıkları oluşturmak için elektrostatik etkileşimler yoluyla etkileşime giren iki karşıt net yüklü biyopolimeri içeren bir faz ayırma işlemidir. Koaservasyon genellikle çoklu doymamış yağ asitleri gibi yağda çözünen (lipofilik) bileşenleri sarmak için kullanılmaktadır. Bu teknikte elde edilen mikrokapsüller suda çözünmez ve ısıya dayanıklıdır, diğer mikrokapsülleme teknolojilerine göre kompleks koaservasyonun temel avantajları, genel olarak daha yüksek kapsülleme verimliliği, daha yüksek aktif bileşen yükleme seviyesi ve salınım hızını tam olarak kontrol etme olasılığıdır (Yan vd.,2022).

#### 2.6. Akışkan Yatak Kaplama

Akışkan yatak kaplama teknolojisi genellikle püskürtmeli kurutma ve koaservasyon gibi diğer mikrokapsülleme teknolojileriyle birleştirilmektedir. Bu teknoloji, solvent bazlı kaplamalar veya sıcakta eriyen mumlar kullanarak katı parçacıkların kapsüllemesini gerçekleştirilmesinde kullanılmaktadır (Teunou ve Poncelet 2002).

Akışkan yatak teknolojisinin önemli avantajı, hidrofilik ya da hidrofobik, solventle düzenlenen ya da solvent olmayan formülasyonlardan oluşan geniş kaplama malzemesi seçimidir. Bu tekniğin bir diğer avantajı da kabuk malzemelerinin birkaç kat halinde kullanılabilmesi ve kaplama işlemi boyunca farklı malzemelerin kullanılabilmesidir. Bu teknolojinin en büyük dezavantajı, 20 µm'den küçük partiküller elde etmenin zor olmasıdır (Mudric vd., 2018).

#### 2.7. Dondurarak Kurutma

Dondurarak kurutma, buzun kapsüllerden vakum altında doğrudan bir gaza süblimleştirildiği bir işlemdir. Dondurarak kurutma, oldukça yüksek maliyeti nedeniyle (sprey kurutmadan 30-50 kat daha fazla) aktif bileşenler için pahalı bir kapsülleme teknolojisidir (Gharsallaoui 2007). Bu yöntemin dezavantajları arasında mikroorganizma kaplanmasında kullanımında, buz kristallerinin mikrobiyal hücre zarının bütünlüğünü bozabilmesi de bulunmaktadır (Yan vd.,2022).

#### 2.8. Aerojel Kaplama

Aerojel kaplama oldukça yeni bir yöntem olup, yöntem gıda saflığındaki arojellerin içerisine aroma maddelerinin yüklenmesi esasına dayanmaktadır. Bir ürünün arzu edilen lezzet özelliklerini kaybetmesini önlemek için, aromaların yiyecek veya içeceklerde kullanılmadan önce kapsüllemesi faydalıdır. Aromaların kapsüllemesinde, birçok farklı yöntem ve aromaların farklı fiziksel hapsolme biçimleri kullanılarak denenmiş ve ticarileştirilmiştir. Bu yöntem, bir veya daha fazla gıdada kullanılabilir malzemenin gıdada kullanılabilir arojellerin oluşturulmasına ilişkindir ve süperkritik

karbon dioksit teknolojisinin yardımıyla aromaların aerojellere emprenye edilmesi ile gerçekleştirilmektedir. Aktif madde yükleme seviyesi ağırlıkça %70'e kadar çıkabildiğinden, oksijensiz ortamda aktif gıda bileşenlerini korumak için en iyi teknolojilerden biridir. Ancak, ölçek büyütme zorlukları ve yüksek maliyet nedeniyle ticari olarak kullanılması kolay bir yöntem değildir. Aerojeller, jelleşme ve ardından süperkritik karbon dioksit kurutma ile oluşturulan açık gözenekli, tutarlı kuru inorganik veya katı organik malzeme ağlarından yapılır. Diğer kurutma teknolojilerinden ziyade aerogelasyonun seçilmesinin birincil nedeni, şeklin ve açık gözenekli yapının korunmasıdır (Selmer vd., 2019, Yan vd.,2022).

### 3. SONUÇ

Günümüzde tüketici sağlığına olumlu etkileri olan probiyotiklerin kullanımı giderek artmaktadır. Buna bağlı olarak probiyotiklerin olumsuz şartlara karşı korunmasında kullanılan mikroenkapsülasyon teknolojisinin artan bir önemi vardır. Her geçen gün çok fazla sayıda yöntem ve bu yöntemlerin modifikasyonları ile oluşturulan yeni yöntemler geliştirilmektedir. Probiyotiklerin mikroenkapsülasyon uygulamalarında seçilecek yöntemler ve kaplama materyallerine karar verilirken canlılığın korunması ön planda tutulmalıdır. Bunun yanında yöntemin uygulanabilirliği ve ekonomik olması da dikkate alınmalıdır.

### 4. KAYNAKLAR

- Ashwar BA, Gani A, Gani A (2018). Production of RS4 from rice starch and its utilization as an encapsulating agent for targeted delivery of probiotics. *Food Chem* 239, 287-294.
- Calderon-Oliver M ve Edith Ponce-Alquicira E (2022). The Role of Microencapsulation in Food Application, *Application. Molecules*, 27, 1499.
- Camalo-Silva C, Verruck S, Ambrosi A, Di Luccio M (2022). Innovation and Trends in Probiotic Microencapsulation by Emulsification Techniques. *Food Engineering Reviews* 14, 462-490.
- De Prisco A, Mauriello G (2016). Probiotication of foods: A focus on microencapsulation tool. *Trends Food Sci. Technol.* 48, 27-39.
- Furuta T, Neoh TL (2021). Microencapsulation of Food Bioactive Components by Spray Drying: A Review. *Drying Technology* 39,12, 1800-1831.
- Gharsallaoui A, Roudaut G, Chambin O, Voilley A, Saurel R (2007). Applications of Spray-Drying in Microencapsulation of Food Ingredients: An Overview. *Food Research International*. 40, 9, 1107-1121.
- Kanat S, Terzi Gülel G (2020). Mikroenkapsülasyon ve Gıda Endüstrisinde Kullanım Alanları. *Aydın Gastronomy*. 5,1, 81-89.
- Kim, SK, Guevarra RB, Kim YT, Kwon J, Kim H, Cho JH, Kim HB, Lee JH (2019). Role of Probiotics in Human Gut Microbiome-Associated Diseases. *J. Microbiol. Biotechnol.* 29, 1335-1340.
- Kneifel W, Mattila-Sandholm T and Wright A (1999). Probiotic Bacteria-Detection and estimation in fermented and non-fermented dairy products, *Encyclopedia of Food Microbiology*. ed: Robinson, R.K., Batt, C.A., Patel, P.D., Vol. 3, Academic Pres, pp, 1783-1789.
- Kowalska E, Ziarno M, Ekielski A, Zelaznski T (2022). Materials used for the microencapsulation of probiotic bacteria in the food industry, *Molecules* 27,3321.
- Lu Y, Mao L, Hou Z (2019). Development of Emulsion Gels for the Delivery of Functional Food Ingredients: from Structure to Functionality. *Food Eng Rev* 11, 245-258.
- Maleki D, Azizi A, Vaghef E (2015). Methods of increasing probiotic survival in food and gastrointestinal conditions, *Prensa Med Argent* 101, 4, 1-9.
- Mehta N, Kumar P, Verma KA, Umaraw P, Kumar Y, Malav OP 1, Qurni Sazili AQ, Domínguez R, Lorenzo JM (2022). Microencapsulation as a Noble Technique for the Application of Bioactive Compounds in the Food Industry, *Comprehensive Review. Appl. Sci.*, 12, 1424.
- Mudric J, Ibric S, Duris J (2018). Microencapsulation Methods for Plants Biologically Active Compounds: A Review. *Lekovite sirovine*, No. 38, 62-67.



- Napiórkowska A, Kurek M (2022). Coacervation as a Novel Method of Microencapsulation of Essential Oils-A Review. *Molecules*, 27, 16, 5142.
- Nazzaro F, Fratianni F, Coppola R, Sada A, Orlando P (2009). Fermentative ability of alginate-prebiotic encapsulated *Lactobacillus acidophilus* and survival under simulated gastrointestinal conditions. *Journal of Functional Foods* 1:319- 323.
- Phuong TL, Bujna E, Kun S, Charalampopoulos D, Khutoryanskiy VV (2021). Electrospayed mucoadhesive alginate-chitosan microcapsules for gastrointestinal delivery of probiotics. *Int. J. Pharm.* 2021, 597, 120342.
- Safi ME, Memlawal R, Banuree SAH (2021). Material and Techniques for Microencapsulation, *Bioscience Biotechnology Research Communications* 14, 3.
- Selmer I, Karnetzke J, Kleemann C, Lehtonen M, Mikkonen KS, Kulozik U, Smirnova I (2019). Encapsulation of Fish Oil in Protein Aerogel Micro-Particles. *J. Food Eng.* 260, 1-11.
- Teunou E, Poncelet D (2002). Batch and Continuous Fluid Bed Coating-Review and State of the Art. *J. Food Eng.* 53, 4, 325-340.
- Wang M, Wang C, Gao F, Guo M (2018). Effects of polymerised whey protein-based microencapsulation on survivability of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and physiochemical properties of yoghurt. *J. Microencapsul.* 35, 504-512.
- Yan C, Kim SY, Ruiz DR, Farmer JR (2022). Microencapsulation for Food Applications: A Review. *ACS Appl. Bio Mater.* 5, 5497-5512.

**TÜRKİYE'DE DOĞAL OLARAK YETİŞEN *TEUCRIUM CHAMAEDRYS* L. SUBSP. *CHAMAEDRYS* VE *TEUCRIUM DIVARICATUM* SUBSP. *DIVARICATUM*'UN UÇUCU YAĞ BİLEŞENLERİ**

**ESSENTIAL OIL COMPONENTS OF *TEUCRIUM CHAMAEDRYS* L. SUBSP. *CHAMAEDRYS* AND *TEUCRIUM DIVARICATUM* SIEBER SUBSP. *DIVARICATUM* SIEBER GROWING NATURALLY IN TURKIYE**

**Tuğba ÇAKIR<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Ermenek Meslek Yüksekokulu, Karaman, Türkiye.

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5647-2985>

**Ömer ÇEÇEN<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Karaman, Türkiye.

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1315-9876>

**Hasan MARAL<sup>3</sup>**

<sup>3</sup>Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Ermenek Meslek Yüksekokulu, Karaman, Türkiye.

<sup>3</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9074-1109>

**ÖZET**

*Lamiaceae* familyasının bir üyesi olan *Teucrium* L. cinsi, tüm dünyada bulunur, ancak esas olarak Doğu Yarımküre'nin kuzey ılıman ve subtropikal bölgelerinde bol miktarda bulunur. *Teucrium* cinsinin temsilcileri yüzyıllardır şifalı bitkiler olarak kullanılmaktadır. *Teucrium* türleri tonikler, terleticiler, diüretikler, antidiyabetik, antiseptik, antelmintik, gaz giderici ve mide ağrısı, astım, amenore, lökorea, kronik bronşit ve gut tedavisi olarak geleneksel olarak kullanılmaktadır. Bu çalışma *Chamaedrys* Miller Schreber, seksiyonuna ait iki türün (*Teucrium chamaedrys* L. subsp. *chamaedrys* ve *Teucrium divaricatum* subsp. *divaricatum*) uçucu yağ oran ve bileşenlerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Floradan çiçeklenme döneminde toplanan örneklerin topraküstü kısımları gölgede kurutulduktan sonra Clevenger apartı ile uçucu yağları elde edilmiş ve yağların GC/MS analizleri yapılmıştır. Analiz sonucunda *T. chamaedrys* uçucu yağ oranı % 0.36 olarak belirlenmiş, uçucu yağın ana bileşenlerinin ise trans-caryophyllene (% 22.07), Germacrene D (% 19.52),  $\alpha$ -pinene (% 11.12) ve humulene (% 10.47) olduğu belirlenmiştir. *T. divaricatum*'un uçucu yağ oranı ise % 0.20, ana bileşenler ise spathulenol (% 16.27),  $\alpha$ -pinene (% 12.71), trans-caryophyllene (% 10.05), caryophyllene oxide (% 9.07) ve  $\beta$ -pinene (% 7.01) olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada her iki türünde uçucu yağın anabileşenlerinin benzer olduğu ancak ana bileşenlerinin oranlarında farklılıkların olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** GC-MS, *Lamiaceae*, *Teucrium chamaedrys*, *Teucrium divaricatum*, uçucu yağ.

**ABSTRACT**

The genus *Teucrium* L., a member of the *Lamiaceae* family, is found throughout the world, but is mainly abundant in the northern temperate and subtropical regions of the Eastern Hemisphere. Members of the genus *Teucrium* have been used as medicinal plants for centuries. *Teucrium* species are traditionally used as tonics, diaphoretic, diuretics, antidiabetic, antiseptic, anthelmintic, carminative, and treatment for stomachache, asthma, amenorrhoea, leukorrhoea, chronic bronchitis, and gout. This study was carried out to determine the essential oil content and components of two species (*Teucrium chamaedrys* L. subsp. *chamaedrys* and *Teucrium divaricatum* subsp. *divaricatum*) belonging to the *Chamaedrys* Miller Schreber, section. After the aboveground parts of the samples collected from the flora during the flowering period were dried in the shade, the essential oils were obtained with the Clevenger apartment and the GC/MS analyzes of the oils were made. As a result of the analysis, the essential oil content of

*T. chamaedrys* was determined as 0.36%, and the main components of the essential oil were determined as trans-caryophyllene (22.07%), Germacrene D (19.52%),  $\alpha$ -pinene (11.12%) and humulene (10.47%). The essential oil content of *T. divaricatum* is 0.20%, and the main components are spathulenol (16.27%),  $\alpha$ -pinene (12.71%), trans-caryophyllene (10.05%), caryophyllene oxide (9.07%) and  $\beta$ -pinene (7.01%). ) has been detected. In the study, it was determined that the main components of the essential oil in both species were similar, but there were differences in the ratios of the main components.

**Keywords:** GC-MS, *Lamiaceae*, *Teucrium chamaedrys*, *Teucrium divaricatum*, essential oil.

## 1. GİRİŞ

Türkiye, bitki çeşitliliği ve bitki habitatları açısından dünyanın en zengin ülkelerinden biridir. Bu zenginlik ülkemizin 3 farklı fitocoğrafik bölgenin kesişim noktasında olması, Asya ve Avrupa kıtaları arasında köprü vazifesi görmesi, bitkilerin yayılışı açısından önemli bir fiziksel ve iklimsel bariyer fonksiyonu gören Anadolu Diyagonalinin varlığı, birçok farklı iklim tipinin etkisinde olması, 0-4500 metre arasında değişen yükselti farklılıklarına sahip olması ve deniz, akarsu, göl, akarsu, bataklık gibi çok farklı ekosistemleri barındırması gibi faktörlerden kaynaklanmaktadır (Yılmaz Sancar, 2021; Maral, 2022).

*Lamiaceae* familyasının yeryüzünde yaklaşık 236 cins ve 6.900 ila 7.200 türü bulunmaktadır. Bu familyaya ait en büyük cinsler ise *Salvia* (900 tür), *Scutellaria* (360 tür), *Stachys* (300 tür), *Plectranthus* (300 tür), *Hyptis* (280 tür), *Teucrium* (250 tür), *Vitex* (250 tür), *Thymus* (220 tür), *Nepeta* (200 tür) ve *Sideritis* (100 tür) cinsleridir (Salama ve El-Shabasy, 2019; Maral ve ark., 2022). Türkiye ise, *Lamiaceae* familyasının önemli bir gen merkezi olup, 346'sı endemik olmak üzere 782 tür ve takson ile temsil edilmekte ve endemizm oranı %44,2'dir. Son verilere göre ülkemizde 287 takson (%36,7) İran-Turan, 293 takson (%37,4) Akdeniz ve 90 takson (%11,5) Avrupa-Sibirya fitocoğrafik bölgelerinde ve 112 takson ise (%14,3) bilinmiyor veya birden çok bölgede bulunmaktadır (Celep ve Dirmenci, 2017).

*Teucrium* cinsi yaklaşık 290 türden (380 takson) oluşur. *Teucrium* cinsi Avrupa, Asya, Amerika ve Avustralya'da yaygın olarak dağılım gösterir ancak ana dağılım alanı tüm taksonların yaklaşık %96'sını içeren Akdeniz bölgesidir (Özcan ve ark., 2015). *Teucrium* türleri, tüm dünyada kaliks şekilleri ve çiçeklenme yapıları açısından 10 seksiyona ayrılmıştır. Bunlar; *Teucriopsis* Benth., *Teucrium*, *Chamaedrys* Miller Schreber, *Polium* Miller Schreber, *Izotriodon* Boissier, *Pycnobotrys* Benth., *Scorodonia* (Hill) Schreber, *Stachyobotrys* Benth., *Scordium* Reichenbach ve *Spinularia* Boissier'dir. *Teucriopsis* ve *Pycnobotrys* seksiyonları Türkiye'de bulunmamakla birlikte 18'i endemik olmak üzere 49 takson (36 tür) ülkemizde doğal olarak yetişmektedir (Ecevit ve ark., 2018; Süvari, 2019; Çeçen ve Özcan, 2021).

*Teucrium* cinsine ait bitkiler çalimsı, yarı çalimsı ve çok yıllık bitkiler olup, yapraklar karşılıklı, sapsız veya saplı, basit, kenarları düz, dişli veya lobludur. Çiçek yapıları basitten birleşige kadar değişir. Çanak yapraklar ışnsaldan 2 dudaklıya, tüpsü, çansı ya da tüpsü-çansı, 5 loblu, çoğunlukla 10 damarda bariz belli ya da bazen ana damarlar daha belirgin, loblar aynı veya biri diğer 4'ünden farklı olabilir. Taç yapraklar farklı renklerde genellikle bir dudaklıdır. Erkek organ 2'si kısa 2'si uzun 4 adet, filamentler düz veya kıvrımlı ve anter kabukları birbirinden ayrılmış şekildedir. Polen kapakçıklı, dış kısımda genellikle siğilimsidir. Dişi organ 2 odacıklı ve 4 lobludur. (Özcan, 2015; Süvari, 2019).

*Teucrium* cinsinin temsilcileri yüzyıllardır antispazmodik, tonik, ateş düşürücü, terletici, diüretik, antidiyabetik, antiseptik, antelmintik, gaz giderici ve mide ağrısı, astım, kronik bronşit ve gut tedavisi, gibi bir çok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır (Kaya ve ark., 2009; Bağcı ve ark., 2010; Süvari, 2019). Ayrıca bu cinsin bir çok üyesi antimikrobiyal, antioksidan ve antifungal aktivite gösterdiği ve gıdalarda doğal koruyucu madde olarak kullanıldığı için gıda endüstrisinde de oldukça önemlidir (Bağcı ve ark., 2010).

*T. chamaedrys* and *T. divaricatum* türleri tüm dünyada 'germander' olarak bilinen ve geleneksel olarak kullanılan türlerdir (Aydoğan ve ark., 2022). Bu türler iltihap önleyici, romatizma önleyici, sindirim ve idrar söktürücü etkileri nedeniyle bitkisel ilaçlarda faydalıdır. Sıtma önleyici, spazm giderici, iştah açıcı, şeker hastalığı, hemoroid, mide ağrısı, kalp hastalıkları, bağırsak koliği, böbrek hastalıkları, çatlamış, parmak uçlarında çatlak olarak kullanılırlar. *Teucrium* cinsi içerisinde en çok araştırılan

türlerden biri olan *T. chamaedrys*, hepatotoksiste konusunda bazı endişeler olmasına rağmen kilo kontrolünde hala kullanılmaktadır (Bağcı ve ark., 2010).

Bu çalışmada *Chamaedrys* Miller Schreber, seksiyonuna ait *T. chamaedrys* ve *T. divaricatum* türlerinin uçucu yağ oran ve bileşenleri bakımından farklılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. MATERYAL VE METOT

Çalışılan türlerden *T. chamaedrys* L. subsp. *chamaedrys* 19 Haziran 2021 tarihinde Mersin Çamlıyayla Sirpişli Tepe- Büklü Boyun Arasında 1600- 1800 m yükseklikte toplandı. *T. divaricatum* Sieber ex Heldr. subsp. *divaricatum* türü ise 22 Mayıs 2021 tarihinde Antalya Demre'de Demre Çayı, Mermer Ocakları Çevresinde 100- 200 m yükseltide toplandı. Bitkilerin teşhisi Dr. Öğr. Üyesi Ömer ÇEÇEN tarafından yapılmıştır. Herbaryum örnekleri (*T. chamaedrys* L. subsp. *chamaedrys* ÖÇ 7089; *T. divaricatum* Sieber ex Heldr. subsp. *divaricatum* TÇ 6952) Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Biyoçeşitlilik Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde muhafaza edilmektedir.

### 2.1. Uçucu Yağların İzolasyonu

Bitkilerin gölgede kurutulan toprak üstü kısımları, bir Clevenger tipi aparat kullanılarak 3 saat süreyle hidro damıtıldı. Elde edilen yağlar analiz edilene kadar +4°C'de saklandı.

### 2.2. GC-MS Analizleri

Her numunenin uçucu yağlarının ana bileşenlerinin analizi, TR-FAME kapiler kolon (%5 Fenil Polisilfenilen-siloksan, 60 m ×) ile donatılmış Thermo Scientific ISQ Single Quadrupole Gas Chromatography- Mass Spectrometry cihazı (Milano, İtalya) kullanılarak yapılmıştır. 0,25 mm iç çap × 0,25 µm film kalınlığı). Taşıyıcı gaz olarak 1 ml/dakika akış hızında helyum (%99,9) kullanılmıştır. Kütle spektrumları 70 eV'de kaydedildi, kütle aralığı 1.2 ila 1.200 m/z idi. Veri toplama için Tarama Modu kullanıldı. MS transfer hattı, iyonizasyon kaynağı ve enjeksiyon portu sıcaklıkları sırasıyla 250, 230 ve 220 °C idi (Maral et al. 2022).

## 3. SONUÇ VE TARTIŞMA

Clevenger aparatı ile distile edilen *T. chamaedrys* L. subsp. *chamaedrys*'in uçucu yağ içeriği %0.36 olarak belirlenmiştir. Uçucu yağda, toplam yağın % 98.71'ini temsil eden 34 bileşen tespit edilmiştir. Uçucu yağın major bileşenleri ise trans-caryophyllene (% 22.07), Germacrene D (% 19.52), α-pinene (% 11.12), humulene (% 10.47), β-bourbonene (5.02), β-pinene (% 4.70) ve caryophyllene oxide (% 4.47) olarak belirlenmiştir (Table 1).

*T. divaricatum* Sieber ex Heldr. subsp. *divaricatum* türünün ise % 0.20 uçucu yağ içerdiği belirlenmiştir. Uçucu yağda, toplam yağın % 98.73'ünü temsil eden 34 bileşen tespit edilmiştir. Uçucu yağın major bileşenlerinin ise spathulenol (% 16.27), α-pinene (% 12.71), trans-caryophyllene (% 10.05), caryophyllene oxide (% 9.07), β-pinene (% 7.01) ve humulene (% 4.39) olduğu tespit edilmiştir.

Aynı seksiyona ait *T. chamaedrys* L. subsp. *chamaedrys* ve *T. divaricatum* Sieber ex Heldr. subsp. *divaricatum* türlerinin uçucu yağ oran ve bileşenlerinin benzerlik gösterdiği majör bileşenlerinin oranlarında farklılıkların olduğu Tablo 1 de görülmektedir.

Bağcı ve ark., (2010), yaptıkları çalışmada *T. chamaedrys* uçucu yağ oranını % 0.3 olarak bildirmişlerdir. Uçucu yağın ana bileşenlerini ise Germakren D (%32,1), β-karyofillen (14.2), δ-kadinen (%13.1) bisiklogermakren (%6.7) ve β-farnesen (%4.3) olarak tespit etmişlerdir. Morteza-Semnani ve ark. (2005), çalışmalarında *T. chamaedrys* uçucu yağının ana bileşenlerinin germacrene D (% 16.5), (Z) β-farnesen (% 2.2), β-karyofillen (% 10.5), α-pinen (% 9.1) ve δ-cadinene (%7,4) olarak belirlemişlerdir. Kovacevic ve Lakusic (2001), toplanan *T. chamaedrys* uçucu yapının ana bileşenlerini β-karyofillen (% 26.9) ve germacrene D (% 22.8) olduğunu belirlemişlerdir. Küçük ve ark. (2006), yaptıkları çalışmada *T. chamaedrys* subsp. *chamaedrys* uçucu yağının ana bileşenlerini Germacren D (% 16.7), α -pinen (% 15.8), β-karyofillen (%11.8), β-pinen (%8.9) ve β-mirsen (%4.1) olarak, *T. chamaedrys*. subsp. *lydium*'un ana bileşenlerini ise β-karyofillen (%19.7), α-pinen (%12.5), germacren D (% 9.30) ve karyofillen oksit (% 6.1) olarak bildirmişlerdir. Tzakou ve ark. (1997), yaptıkları çalışmada *T. divaricatum* Heldr. Ssp. *divaricatum* uçucu yağ oranını % 0.7, ana bileşenlerini ise δ-kadinen, β-karyofillen ve bisabolene olarak tespit etmişlerdir. Formisano ve ark. (2010), *T. divaricatum* Sieb. ssp.

*villosum* (Celak.) Rech. fil. Uçucu yağ oranını % 0.27, ana bileşenleri ise (E)-Caryophyllene (% 30.10) ve karyofilen oksit (% 6.10) olarak belirlemiştir. Çalışılan bitkiler diğer çalışmalarla kıyaslandığında uçucu yağlarının ana bileşenlerinin genellikle benzerlik gösterdiğini ancak oranlarında farklılıkların olduğu belirlenmiştir. Bu farklılıkların bitkinin türü, yetiştirme ortamı ve hasat zamanı ve saatinden kaynaklandığı söylenebilir

**Tablo 1.** *T. chamaedrys* L. subsp. *chamaedrys* ve *T. divaricatum* Sieber ex Heldr. subsp. *divaricatum* türlerinin uçucu yağ oran ve bileşenleri

RT	Bileşenler	<i>T. chamaedrys</i>	<i>T. divaricatum</i>
6.57	$\alpha$ -Pinene	11.12	12.71
8.39	$\beta$ -Pinene	4.70	7.01
9.05	Myrcene	0.25	1.35
10.04	Limonene	2.47	3.74
11.17	$\gamma$ -Terpinene	-	0.38
12.05	Eucalyptol	-	1.45
12.72	p-Cymene	-	1.22
12.03	$\alpha$ -Terpinolene	0.2	-
17.22	1-Octen-3-ol	0.34	0.46
19.05	$\alpha$ -Cubebene	1.26	0.47
20.35	$\beta$ -Bourbonene	5.02	0.62
20.73	Linalool	0.57	0.58
21.69	$\alpha$ -Bergamotene	1.35	-
24.06	trans-Caryophyllene	22.07	10.05
24.70	Alloaromadendrene	2.99	3.28
25.97	$\alpha$ -Murolene	1.04	-
26.20	Cis-Sabinol	-	2.35
26.46	Humulene	10.47	4.39
27.07	Amorphene	1.19	-
27.47	Germacrene D	19.52	3.22
27.89	Isoledene	0.37	-
28.13	$\alpha$ -Panasinsen	0.31	-
28.46	Bicyclogermacrene	0.97	-
28.68	Myrtenal	-	1.89
29.55	Myrtenol	-	0.47
30.65	cis-Calamenene	0.21	0.76
33.81	Ledene	0.15	-
35.49	Alloaromadendrenoxid	0.26	2.71
35.56	Nerolidol	0.10	-
37.81	Junipene	0.26	-
37.93	$\beta$ -Ionone	-	0.65
38.48	Cubenol	0.37	0.48
40.14	Caryophyllene oxide	4.47	9.07
40.36	Spathulenol	-	16.27
40.98	Torreyol	1.24	0.37
41.15	Hexahydrofarnesyl acetone	0.14	0.84
41.46	Methyl arachidonate	0.18	0.81
42.27	$\alpha$ -Cadinol	3.72	3.18
41.60	Humuladienone	-	1.26
43.68	1-Naphthalenamine, 4-bromo-	0.14	2.51
44.59	Aromadendrenepoxide	0.43	0.41
45.21	Sclareol	0.69	1.41
46.56	Ledane	0.14	1.77
52.48	13-Epimanool	-	0.59
	Bileşen sayısı	34	34
	Toplam (%)	98.71	98.73
	Uçucu yağ içeriği (%)	0.36	0.20

### 3. SONUÇLAR

*Teucrium* cinsine ait türler antispazmodik, tonik, ateş düşürücü, terletici, diüretik, antidiyabetik, antiseptik, antelmintik, gaz giderici ve mide ağrısı, astım, kronik bronşit ve gut tedavisi, gibi bir çok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Bu çalışmada doğadan toplanan *Teucrium* cinsine ait *T. chamaedrys* and *T. divaricatum* türlerinin uçucu yağ oran ve bileşenleri belirlenmiştir. Çalışmada aynı seksiyona ait türlerin uçucu yağ içeriklerinin birbirine yakın olduğu belirlenmiştir. Uçucu yağın major bileşenlerinin ise birbirine benzer olduğu ancak major bileşenlerinin oranlarında farklılıkların olduğu tespit edilmiştir.

### 4. KAYNAKÇA

Aydoğan, S. F., Ali, Z., Khan, S. I., Karaalp, C., Khan, I. A. (2022). Neo-clerodanes from *Teucrium divaricatum* and their potential antiinflammatory and antimicrobial activities. Annual Poster Session 2022. 1. [https://egrove.olemiss.edu/pharm\\_annual\\_posters\\_2022/1](https://egrove.olemiss.edu/pharm_annual_posters_2022/1).

Bagci, E., Yazgın, A., Hayta, S., Cakılcıoğlu, U. (2010). Composition of the essential oil of *Teucrium chamaedrys* L. (Lamiaceae) from Turkey. Journal of Medicinal Plants Research, 4(23), 2588-2590.

Celep, F., Dirmenci, T. (2017). Systematic and biogeographic overview of *Lamiaceae* in Turkey. Natural Volatiles & Essential Oils, 4(4), 14-27.

Çeçen, Ö., Özcan, T. (2021). A new *Teucrium* L. (Lamiaceae) species from South Anatolia (Turkey). Turk J. Bot., 45, 353-370.

Ecevit Genç, G., Özcan, T., Dirmenci, T. (2018). Leaf indumentum in some Turkish species of *Teucrium* (Lamiaceae). Istanbul J. Pharm., 48(1), 6-11.

Formisano, C., Napolitano, F., Rigano, D., Arnold, N. A., Piozzi, F., Senatore, F. (2010). Essential oil composition of *Teucrium divaricatum* Sieb. ssp. *villosum* (Celak.) Rech. fil. growing wild in Lebanon. J. Med. Food, 13(5), 1281-1285.

Kaya, A., Demirci, B., Başer, K. H. C. (2009). Compositions of essential oils and trichomes of *Teucrium chamaedrys* L. subsp. *trapezunticum* Rech. fil. and subsp. *syspirense* (C. Koch) Rech. fil. Chemistry and Biodiversity, 6, 96- 104.

Kovacevic, N. N., Lakusic, B. S. (2001). Composition of the essential oils of seven *Teucrium* species from Serbia and Montenegro. J. Essent. Oil. Res., 13, 163-165.

Küçük, M., Güleç, C., Yaşar, A., Üçüncü, O., Yaylı, N., Coşkunçelebi, K., Terzioğlu, S., Yaylı, N. (2006). Chemical composition and antimicrobial activities of the essential oils of *Teucrium chamaedrys*. subsp. *chamaedrys*., *T.orientale*. var. *puberulens*., and *T.chamaedrys*. subsp. *lydium*. Pharmaceutical Biology, 44, 8, 592-599.

Maral, H. (2022). Composition of essential oil and antioxidant properties of *Glaucosciadium cordifolium* (Boiss.) B.L. Burt and P.H. Davis plant organs growing wild in Turkey. Bangladesh J. Bot., 51(3): 573-579.

Maral, H., Cecen, O., Turkmen, M. (2022). Chemical composition of essential oils of *Sideritis bilgerana* P.H. Davis and *Sideritis congesta* P.H. Davis & Hub. 3rd International Conference on Applied Engineering and Natural Sciences (ICAENS 2022), July 20-23, Konya, Turkey.

Morteza-Semnani, K., Akbarzadeh, M., Rostami, B. (2005). The essential oil composition of *Teucrium chamaedrys* L. from Iran. Flavour Fragr. J., 20, 544-546.

Özcan, T. (2015). *Teucrium* L. (Lamiaceae) cinsinin revizyonu. Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2015, Balıkesir.

Özcan, T., Dirmenci, T., Martin, E., Altınordu, F. (2015). Cytotaxonomical study in five taxa of the genus *Teucrium* L. (Lamiaceae). Caryologia, 68(1), 1-8.

Salama, A. S., El-Shabasy, A. (2019). Taxonomy study of some members of *Lamiaceae* through morphological traits and effects on general condition of the Honey Bee (*Apis mellifera* L.). International Journal of Pure and Applied Zoology, 7(4), 75-81.

- Süvari, G. (2019). *Teucrium parviflorum* ve *Teucrium polium* bitkilerinin kimyasal ve biyolojik aktivite yönünden incelenmesi. Dicle Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Y. Lisans Tezi, 2019, Diyarbakır.
- Tzakou, O., Roussis, V., Loukis, A., Harvala, C., Galati, E. M., Germano, M. P. (1997). Essential oil analysis of *Teucrium divaricatum* Heldr. ssp. *divaricatum* growing in Greece. Flavour and Fragrance Journal, 12. 113-115.
- Yılmaz Sancar, P. (2021). Çeşitli bitki taksonlarında bazı DNA izolasyon yöntemlerinin karşılaştırmalı analizi. Uluslararası Doğu Anadolu Fen Müh. ve Tas Dergisi, 3(1), 117-128.

**SERUM ATLARINDA YÜKSEK PROTEİN DÜZEYİ VE KALİTESİNE SAHİP  
RASYONLARIN AKREP SERUMU ÜRETİM PERFORMANSINA ETKİSİ**  
**THE EFFECT OF DIETS WITH HIGH PROTEIN LEVEL AND QUALITY ON SCORPION  
SERUM PRODUCTION PERFORMANCE IN SERUM HORSES**

**Tuba AYDIN**

*Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Beslenme ve Beslenme Hastalıkları*

*ORCID ID: 0000-0002-1872-6980*

**Adnan ŞEHU**

*Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Beslenme ve Beslenme Hastalıkları*

*ORCID ID: 0000-0002-9674-1473*

**Ali ÇALIK**

*Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Beslenme ve Beslenme Hastalıkları*

*ORCID ID: 0000-0003-4550-9321*

**Mehmet Ali KANAT**

*T.C Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü*

**ÖZET**

Bu araştırmada; akrep serumu üretilen atların yüksek ve kaliteli protein içeren rasyonlar ile beslenmesinin antikor oluşumuna etkisi belirlemek amacıyla araştırmada hayvan materyali olarak serum atları kullanılmıştır. Kontrol grubunda 3 at, deneme grubunda 3 at olmak üzere toplam 6 at üzerinde çalışma yapılmıştır. Gruplar bir erkek, iki dişi attan oluşturulmuştur. Yapılan çalışma, kontrol grubu ve deneme grubu yer değiştirilerek iki kere tekrar edilmiştir. Denemede kullanılan atlara verilen günlük yem olarak 4 kg konsantre yem, 3 kg yonca kuru otu ve 2 kg arpa samanı verilmiştir. Kontrol grubuna %13,65 Ham Protein içeren; deneme grubuna %18,05 Ham Protein içeren konsantre yemlerden oluşturulmuştur. Atlara su ad libitum olarak verilmiştir.

Araştırmada, yüksek kaliteli protein içeren yemlerin antikor titresi, biyokimyasal ve hematolojik kan parametrelerine olan etkileri incelenmiştir.

Antikor titresi olarak kontrol ve deneme grubu arasında istatistik bir fark ortaya çıkmamıştır. Aynı zamanda gruplar erkek ve dişi olarak ayrılarak analiz edildiğinde de istatistik fark ortaya çıkmamıştır. Ancak erkek atlar ile dişi atlar antikor titresi olarak karşılaştırıldığında erkek atların önemli derecede daha fazla antikor ürettikleri ( $p=0,04$ ) tespit edilmiştir. Antikor titresi kontrol grubuyla kıyaslandığında deneme grubunda rakamsal olarak %40,2; dişilerde %4,8 ve erkeklerde %42,6 düzeyinde bir artış göstermiştir. Serumdaki albümin, globülin ve total protein miktarı grupları arasında istatistik fark oluşturamamakla ( $P \geq 0,05$ ) birlikte sayısal değişimler gözlenmiştir.

Sonuç olarak, atlarda bireysel olarak antikor oluşturmada çok büyük varyasyonların olduğu, istatistik öneme sahip olmasa bile protein miktar ve kalitesinin antikor üretimini rakamsal olarak dikkate değer artışlar görülmüştür.

**Anahtar Sözcükler:** Antikor titresi, At, Lizin, Metiyonin, Yüksek ve Kaliteli Protein.



**ABSTRACT**

In the study, serum horses were used as animal material in order to determine the effect of feeding high and quality protein-containing dietary the horses from which scorpion serum is produced on antibody formation.

Horses divided to two groups contain 6 horses and each groups contain 3 horses (2 female and 1 male). Groups are classified two groups. Two feeding period was realized in these groups. One of is control group that horse's diet contain respectively %13,65 crude protein, the other one is trial group that horse's diet contain respectively %18,05 crude protein. Control and experimental group repeated twice by changing. Horse's daily feeding periyod is 4 kg of concentrated feeding, 3 kg of alfalfa hay and 2 kg of barley straw. All horses received water ad libitum.

This study investigated the antibody titer, biochemical and hematological blood parameters that high-quality dietary fed in horse.

There was no statistically significant differences were shown in terms of trial and control groups. Also, no statistical difference was found when the groups were analyzed by separating them as male and female. A statistically significant differences were observed in terms of different genders ( $P=0.004$ ). But antibody titers increase of %40,2 in trial groups, %4,8 in female horse and %42,6 in male horse.

This study was assess the biochemical and hematological parameters in trial and control groups. Serum total protein values, albumine and globulin levels observed change. But there was no statistically significant differences ( $P \geq 0.05$ ).

As a result of the study, it has observed that there are individual antibody consist of great variation, while a istatistically significant has not important. But it could be said that the amount and quality of proteins greatly increases the production of antibodies in quantitative.

**Keywords:** Antibody Titer, High And Quality Protein, Horse, Methionine, Lysine.

**GİRİŞ**

Beslenme ile gerekli olan miktar kadar enerji ve protein alımı optimal immun fonksiyonun oluşumunda önemlidir. Yetersiz enerji ve protein alınımı bağışıklık sisteminin tepki kapasitesini ve antijenlere karşı T-hücresinin reaksiyonunu azaltır. Timusun yapısını ve fonksiyonunu bozulur (1) Herhangi bir besin maddesinin bağışıklık üzerindeki etkisi sadece dokulardaki konsantrasyonuna değil, aynı zamanda diğer önemli besin maddeleri ile olan etkileşimlerine de bağlıdır (2).

Bağışıklık ve immun fonksiyonların oluşumunda beslenme önemlidir. Atlarda beslenmenin immun sistemi üzerine etkisiyle ilgili çalışmalar sınırlıdır (3). Besinlerin birbirleri arasındaki büyük etkileşimi ve beslenme durumu, bağışıklık sistemine hem sağlıkta hem de hastalıkta katkı sağlayan önemli bir faktördür (4 ve 5).

Beslenme ilgili canlılarda yapılan çalışmalarda esansiyel aminoasitler, demir, selenyum, esansiyel yağ asitleri, vitamin B6, vitamin A, folik asit, çinko, vitamin B12, vitamin C ve vitamin E immun sistem fonksiyonu için gerekli olduğunu bahsedilmiştir (6).

Doğal ve kazanılmış bağışıklık oluşumu için gerekli olan aminoasitler; proteinler, polipeptitler ve büyük biyolojik öneme sahip diğer moleküllerin sentezi için yeterli bir seviyede bulunmalıdır (7). Protein ve amino asit eksikliğinin bağışıklık sisteminde fonksiyonel bozulmalara ve enfeksiyonlara yakalanma aralığının artmasına neden olduğu bilinmektedir. Kötü beslenme, plazma içindeki birçok aminoasit miktarını azaltır. Yapılan çalışmalarda elde edilen son bulgulara göre

- 1- Doğal öldürücü immun hücrelerin, T lenfositler, B lenfositler ve makrofajlar oluşumunda
- 2- Hücrenin kimyasal tepkimelerinde, lenfosit çoğalmasında ve gen ekspresyonunda
- 3- Sitokinler, antikorlar ve diğer maddelerin sitotoksik üretiminde ve immun yanıtların düzenlenmesinde aminoasitlerin önemli bir görev üstlendiği tespit edilmiştir (8).

## Materyal ve Metod

### Deneme

Hayvan Materyali: Deneme iki grup at üzerinde yapılmıştır. Gruplardaki atlardan birisi erkek, ikisi dişiden oluşmuştur. Akrep serumu üretmek amacıyla kullanılan atlar bireysel bölmelere alınmış ve 4 ay boyunca kontrol ve deneme rasyonları ile beslenmiştir. Çalışma; kontrol ve deneme grupları yer değiştirilerek tekrar edilmiştir.

Yem Materyali: Araştırmada kullanılan karma yemler, yem ham maddeleri temin edilmesinden sonra, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Eğitim Araştırma ve Uygulama Çiftliğinde hazırlanmıştır. Araştırmada kullanılan yemler kontrol ve deneme grupları için ayrı ayrı hazırlanmıştır. Kaba yem olarak hayvanlara arpa samanı ve kuru yonca otu her iki gruba verilmiştir. Deneme gruplarına verilen yemlere lizince zengin soya küspesi ve metiyonin ilavesi yapılmıştır. Deneme rasyonlarının bileşimi, enerji ve besin madde içeriği Tablo 1'de verilmektedir.

**Tablo-1** Konsantre Yem Bileşimi:

Yem Maddesi (g/kg)	Kontrol Grubu	Deneme Grubu
Arpa	400,00	400,00
Kepek	405,00	260,00
Mısır	100,00	100,00
DDGS	57,00	57,00
Soya küspesi 48	-	143,00
Mermer tozu	30,00	30,00
Tuz	7,00	7,00
Vit-mineral*	1,00	1,00
Metiyonin**	-	2,00

\***Vit-mineral:** Vitamin D3, Vitamin A, Vitamin E, Selenyum, Mangan, Kobalt, İyot, Demir, Çinko, Bakır, Kalsiyum Karbonat.

\*\* **Metiyonin (DL-metiyonin) menşei:** Fransa.

**Tablo -2** Yemlerin Besin Madde Değerleri.

	Kuru madde (%)	Ham protein (%)	Ham selüloz (%)	Ham yağ (%)	Ham kül (%)	Ca (%)	P (%)	ADF (%)	NDF (%)
Kontrol grubu	90,94	13,65	6,26	2,97	6,18	1,10	0,45	-	-
Deneme grubu	91,60	18,05	5,71	2,60	6,35	1,37	0,46	-	-
Yonca kuru otu	89,09	16,00	24,40	2,00	8,40	1,16	0,11	38,46	44,60
Arpa samanı	91,88	3,70	33,55	1,63	8,15	0,54	0,04	46,81	75,95

Deneme Düzeni ve Deneme Hayvanlarının Beslenmesi: Atlar her grupta üçer tane olacak şekilde kontrol ve deneme gruplarına ayrılmıştır. Kontrol grubu ve deneme grubunun her birindeki atların birisi erkek, ikisi dişiden oluşmuştur. Atlarda bireysel farklılığın fazla olduğu göz önünde bulundurularak, kontrol grubu ile deneme grubu yer değiştirilerek tekerrür çalışması yapılmıştır. Deneme grubundaki atların rasyonlarına lizince zengin soya küspesi ve metiyonin (sentetik metiyonin) eklenerek protein düzeyi ve kalitesi artırılmıştır. Deneme dört ay sürdürülmüş ve atların rasyonları 4 kg konsantre yem, 3 kg yonca kuru otu ve 2 kg samandan oluşturulmuştur.

**Denemenin Yürütülmesi:** Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğüne bağlı Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Eğitim Araştırma ve Uygulama Çiftliğinde barındırılan serum atlarında akrep anti serum üretimi yapılmaktadır. Üretimi devam edilen akrep anti serumlarından daha yüksek titrede antikor elde etmek amacı ile atlara yüksek düzey ve kalitede protein içeren rasyonlar düzenlenmiştir. Venomların atlara verilmesinden bir hafta önce yüksek protein düzeyi ve kalitesindeki rasyonlar deneme grubundaki atlara verilmiştir. Antijen haline getirilen venomlar, atlara kas içi adjuvan ile birlikte enjekte edilmiştir. İlk beslenme döneminde hayvanlara ilk defa akrep zehiri verildiği için zerkler birer hafta ara ile 7'ye tamamlanmıştır. İkinci beslenme döneminde ise zerkler birer hafta ara ile 4'e tamamlanmıştır. Son zerkten 1-3 gün sonra her bir attan 10 cc kan alınarak antikor titrelere bakılmıştır. Antikor titresi antivenom üretimine uygun atlardan plazmaferez kullanılarak plazma toplanmıştır. Tam kan sayımı ve kan protein analizleri yapılmıştır.

**İstatistik Analizler:** Deneme ve kontrol gruplarında farklı besleme şekillerine göre sonuçların değerlendirilmesinde Mann-Whitney U Test kullanılmıştır.

Bulgular

#### 1. Denemelerde Ortaya Çıkan Antikor Titreleri ve Serum Protein Düzeyi

**Tablo-3** Kontrol ve Deneme Gruplarında Kan Serum Parametreleri ve Antikor Titresi.

Parametreler	n	KONTROL GRUBU $\bar{x} \pm S\bar{x}$	DENEME GRUBU $\bar{x} \pm S\bar{x}$	P
Antikor titresi (NU/ml)	6	46,87 ± 40,31	61,14 ± 65,76	0,660
Total protein(g/dl)	6	8,51± 0,62	8,63± 0,73	0,767
Albümin(g/dl)	6	5,23 ± 0,44	5,13± 0,33	0,690
Globülin (g/dl)	6	3,28± 0,32	3,49 ± 0,54	0,428

Gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsizdir ( $p>0,05$ ).

**Tablo-4** Gruplardaki Kısrakların Kan Serum Parametreleri ve Antikor Titresi.

Dişi				
Parametreler	n	KONTROL GRUBU $\bar{x} \pm S\bar{x}$	DENEME GRUBU $\bar{x} \pm S\bar{x}$	P
Antikor titresi (NU/ml)	4	22,63 ± 16,01	23,72 ± 15,22	0,773
Total protein(g/dl)	4	8,54± 0,59	8,68± 0,92	0,988
Albümin(g/dl)	4	5,33 ± 0,51	5,19± 0,42	0,564
Globülin (g/dl)	4	3,21± 0,09	3,49 ± 0,34	0,555

Gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsizdir ( $p>0,05$ ).

**Tablo -5** Gruplardaki Erkek Atların Kan Serum Parametreleri ve Antikor Titresi.

Erkek				
Parametreler	n	KONTROL GRUBU $\bar{x}\pm S\bar{x}$	DENEME GRUBU $\bar{x}\pm S\bar{x}$	P
Antikor titresi (NU/ml)	2	8,44± 0,94	8,53± 0,28	0,980
Total protein(g/dl)	2	5,03 ± 0,26	5,03± 0,98	0,891
Albümin(g/dl)	2	3,41± 0,67	3,50 ± 0,18	0,986
Globülin (g/dl)	2	95,37 ± 17,39	136,00 ± 64,20	0,439

Gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsizdir ( $p>0,05$ ).

**Tablo -6** Gruplardaki Erkek ve Dişi Atların Kan Serum Parametreleri ve Antikor Titresi.

Erkek -Dişi			
Parametreler	Erkek (n=2) $\bar{x}\pm S\bar{x}$	Dişi (n=4) $\bar{x}\pm S\bar{x}$	P
Antikor titresi (NU/ml)	<b>115,68<sup>a</sup> ± 45,00</b>	<b>23,178<sup>b</sup> ± 14,47</b>	<b>0,004</b>
Total protein(g/dl)	8,48 ± 0,56	8,6 ± 0,72	0,979
Albümin(g/dl)	5,08 ± 0,21	5,26 ± 0,44	0,885
Globülin (g/dl)	3,40 ± 0,39	3,35 ± 0,47	0,806

Gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsizdir ( $p>0,05$ ).

Farklı harflerle (a, b) gösterilen antikor titreleri arasındaki fark istatistik açıdan önemlidir ( $p<0,05$ ).

#### Denemede Tam Kan Sayımı Analizi

Atlardan iki dönemde sonunda V. Jugularislerinden mor kapaklı (EDTA katkılı) tüplere kan örnekleri alınmıştır. Hematolojik analizleri Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Merkez Tanı Laboratuvarında yapılmıştır.

**Tablo -7** Kontrol ve Deneme Gruplarının Kan Hematolojik Düzeyleri

	<b>n</b>	<b>KONTROL GRUBU</b> $\bar{x}\pm S\bar{x}$	<b>DENEME GRUBU</b> $\bar{x}\pm S\bar{x}$	<b>P</b>
<b>WBC, (10<sup>9</sup>/l)</b>	6	10,76± 2,50	11,06 ±1,68	0,813
<b>LYM, (10<sup>9</sup>/l)</b>	6	3,03 ± 0,93	2,76 ± 1,05	0,652
<b>MONO, (10<sup>9</sup>/l)</b>	6	0,78 ± 0,29	0,81 ± 0,23	0,831
<b>NEUT, (10<sup>9</sup>/l)</b>	6	6,85 ± 2,60	6,15 ± 3,87	0,721
<b>EOS, (10<sup>9</sup>/l)</b>	6	0,10 ± 0,15	0,01 ± 0,04	0,231
<b>LYM, (%)</b>	6	29,26 ± 9,42	26,48 ± 11,84	0,662
<b>MONO, (%)</b>	6	6,85 ± 2,33	6,91 ± 2,36	0,962
<b>NEU, (%)</b>	6	62,76 ± 12,02	53,70 ± 29,46	0,501
<b>EOS, (%)</b>	6	1,11 ± 1,75	0,23 ± 0,52	0,264
<b>RBC, (10<sup>12</sup>/l)</b>	6	8,35 ± 1,35	7,94 ± 1,39	0,615
<b>HGB, (g/dl)</b>	6	15,38 ± 2,08	14,73 ± 2,13	0,605
<b>HCT, (%)</b>	6	42,00 ± 5,77	39,45 ± 5,90	0,467
<b>MCV, (fL)</b>	6	50,53 ± 3,86	49,91 ± 3,71	0,784
<b>MCH, (pg)</b>	6	18,50 ± 1,14	18,70 ± 1,27	0,781
<b>MCHC, (g/dl)</b>	6	36,66 ± 0,89	37,48 ± 1,19	0,211
<b>RDWa, (fl)</b>	6	27,03 ± 2,01	26,21 ± 2,32	0,530
<b>RDW, (%)</b>	6	15,93 ± 0,71	16,03 ± 0,73	0,817
<b>PLT, (10<sup>9</sup>/l)</b>	6	142,33 ± 26,50	160,83 ± 53,43	0,465
<b>MPV, (fl)</b>	6	5,66 ± 0,37	5,68 ± 0,44	0,945

Gruplar arasındaki fark istatistik açıdan önemsizdir (p>0,05).

**Tablo -8** Gruplardaki Kısrakların Kan Hematolojik Düzeyleri.

	n	KONTROL GRUBU $\bar{x}\pm S\bar{x}$	DENEME GRUBU $\bar{x}\pm S\bar{x}$	P
WBC, ( $10^9/l$ )	4	11,07±2,58	10,87± 1,96	0,564
LYM, ( $10^9/l$ )	4	3,55 ± 0,62	3,35± 0,64	0,564
MONO, ( $10^9/l$ )	4	0,92 ± 0,25	0,95± 0,12	0,963
NEUT, ( $10^9/l$ )	4	6,52 ± 2,65	6,55± 2,29	0,773
EOS, ( $10^9/l$ )	4	0,07 ± 0,15	0,02± 0,05	0,850
LYM, (%)	4	33,37 ± 8,12	32,27± 9,44	0,960
MONO, (%)	4	8,00 ± 1,71	8,20± 1,49	0,564
NEU, (%)	4	57,90 ± 10,33	59,15± 10,32	0,564
EOS, (%)	4	0,72 ± 1,45	0,35± 0,63	0,741
RBC, ( $10^{12}/l$ )	4	9,02 ± 1,00	8,55± 1,31	0,882
HGB, (g/dl)	4	16,42 ± 1,26	15,85± 1,60	0,772
HCT, (%)	4	45,05± 3,38	42,82± 3,46	0,386
MCV, (fL)	4	50,22± 4,95	50,55±4,62	0,077
MCH, (pg)	4	18,30± 1,40	18,70± 1,60	0,772
MCHC, (g/dl)	4	36,50± 0,94	37,00± 0,85	0,248
RDWa, (fl)	4	27,27± 2,53	27,25± 2,12	0,773
RDW, (%)	4	16,22± 0,65	16,17± 0,79	0,773
PLT, ( $10^9/l$ )	4	131,75± 26,51	144,00± 50,83	0,564
MPV, (fl)	4	5,65± 0,26	5,75± 0,41	0,561

Gruplar arasındaki fark istatistik açıdan önemsizdir ( $p>0,05$ ).

**Tablo -9** Gruplardaki Erkek Atların Kan Hematolojik Düzeyleri.

	n	KONTROL GRUBU $\bar{x} \pm S\bar{x}$	DENEME GRUBU $\bar{x} \pm S\bar{x}$	P
WBC, ( $10^9/l$ )	2	10,15 $\pm$ 3,18	11,45 $\pm$ 1,48	0,439
LYM, ( $10^9/l$ )	2	2,00 $\pm$ 0,00	1,60 $\pm$ 0,42	0,102
MONO, ( $10^9/l$ )	2	0,50 $\pm$ 0,00	0,55 $\pm$ 0,07	0,317
NEUT, ( $10^9/l$ )	2	7,50 $\pm$ 3,39	5,35 $\pm$ 7,56	0,948
EOS, ( $10^9/l$ )	2	0,15 $\pm$ 0,21	0,00 $\pm$ 0,00	0,317
LYM, (%)	2	21,05 $\pm$ 6,57	14,90 $\pm$ 5,65	0,439
MONO, (%)	2	4,55 $\pm$ 1,62	4,35 $\pm$ 1,20	0,992
NEU, (%)	2	72,50 $\pm$ 10,88	42,80 $\pm$ 60,52	0,969
EOS, (%)	2	1,90 $\pm$ 2,68	0,00 $\pm$ 0,00	0,317
RBC, ( $10^{12}/l$ )	2	7,02 $\pm$ 0,91	6,71 $\pm$ 0,20	0,987
HGB, (g/dl)	2	13,30 $\pm$ 1,97	12,50 $\pm$ 0,00	0,889
HCT, (%)	2	35,90 $\pm$ 4,52	32,70 $\pm$ 1,27	0,439
MCV, (fL)	2	51,15 $\pm$ 0,21	48,65 $\pm$ 0,49	0,121
MCH, (pg)	2	18,90 $\pm$ 0,42	18,70 $\pm$ 0,56	0,439
MCHC, (g/dl)	2	37,00 $\pm$ 0,98	38,45 $\pm$ 1,48	0,439
RDWa, (fl)	2	26,55 $\pm$ 0,49	24,15 $\pm$ 0,77	0,121
RDW, (%)	2	15,35 $\pm$ 0,49	15,75 $\pm$ 0,77	0,439
PLT, ( $10^9/l$ )	2	163,50 $\pm$ 7,77	194,50 $\pm$ 55,86	0,896
MPV, (fl)	2	5,70 $\pm$ 0,70	5,55 $\pm$ 0,63	0,439

Gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsizdir ( $p > 0,05$ ).

**Tablo -10** Gruplardaki Erkek ve Dişi Atların Kan Hematolojik Düzeyleri.

	Dişi (n=4) $\bar{x} \pm S\bar{x}$	Erkek (n=2) $\bar{x} \pm S\bar{x}$	P
WBC, ( $10^9/l$ )	10,97 $\pm$ 2,12	10,80 $\pm$ 2,16	0,808
LYM, ( $10^9/l$ )	<b>3,45<sup>a</sup> <math>\pm</math> 0,59</b>	<b>1,80<sup>b</sup> <math>\pm</math> 0,33</b>	<b>0,004</b>
MONO, ( $10^9/l$ )	<b>0,93<sup>a</sup> <math>\pm</math> 0,18</b>	<b>0,52<sup>b</sup> <math>\pm</math> 0,05</b>	<b>0,004</b>
NEUT, ( $10^9/l$ )	6,53 $\pm$ 2,29	6,42 $\pm$ 4,94	0,933
EOS, ( $10^9/l$ )	0,05 $\pm$ 0,10	0,07 $\pm$ 0,15	0,933
LYM, (%)	32,82 $\pm$ 8,17	17,97 $\pm$ 6,13	0,016
MONO, (%)	<b>8,10<sup>a</sup> <math>\pm</math> 1,49</b>	<b>4,45<sup>b</sup> <math>\pm</math> 1,17</b>	<b>0,004</b>
NEU, (%)	58,52 $\pm$ 9,58	76,62 $\pm$ 8,82	0,016
EOS, (%)	0,53 $\pm$ 1,05	0,95 $\pm$ 1,90	0,933
RBC, ( $10^{12}/l$ )	<b>8,78<sup>a</sup> <math>\pm</math> 1,11</b>	<b>6,86<sup>b</sup> <math>\pm</math> 0,57</b>	<b>0,008</b>
HGB, (g/dl)	<b>16,13<sup>a</sup> <math>\pm</math> 1,37</b>	<b>12,90<sup>b</sup> <math>\pm</math> 1,23</b>	<b>0,008</b>
HCT, (%)	<b>43,93<sup>a</sup> <math>\pm</math> 3,38</b>	<b>34,30<sup>b</sup> <math>\pm</math> 3,28</b>	<b>0,008</b>
MCV, (fL)	50,38 $\pm$ 4,43	49,90 $\pm$ 1,47	0,570
MCH, (pg)	18,50 $\pm$ 1,41	18,80 $\pm$ 0,42	0,808
MCHC, (g/dl)	36,75 $\pm$ 0,87	37,72 $\pm$ 1,32	0,214
RDWa, (fl)	27,26 $\pm$ 2,16	25,35 $\pm$ 1,48	0,109
RDW, (%)	16,20 $\pm$ 0,67	15,55 $\pm$ 0,58	0,154
PLT, ( $10^9/l$ )	137,87 $\pm$ 38,103	179 $\pm$ 37,15	0,214
MPV, (fl)	5,70 $\pm$ 0,32	5,62 $\pm$ 0,55	0,808

Farklı harflerle (a, b) gösterilen gruplar arasındaki fark istatistik açıdan önemlidir ( $p < 0,05$ ).

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada; akrep serumu elde edilen atların yüksek ve kaliteli proteinlerle beslenmesinin, immun sistem üzerine etkisi incelenmiştir. Bu amaçla yüksek ve kaliteli protein verilen atların kanlarında gama-globülin, toplam protein, globülin ve bazı kan parametrelerindeki değişimler takip edilmiştir. Yüksek ve kaliteli protein ile beslenen serum atlarında antikor titresini, total protein, albümin ve globülin miktarlarında bir farklılığa yol açmamıştır. İstatistik bir fark oluşmamasına rağmen, deneme grubu antikor titresinin %30,45 düzeyindeki artışı dikkat çekicidir. Ayrıca erkek atların dişilere göre daha yüksek ( $p=0,004$ ) antikor titresine sahip olmaları, önemli bir bulgu olarak ön plana çıkmaktadır.

Tez çalışmasında iki dönem besleme programı uygulanmıştır. İkinci çalışmada kontrol ve deneme gruplarındaki atlar yer değiştirmişlerdir. Bu şekilde verilerin doğruluğunun artırılması hedeflenmiştir. Deneme gruplarında kan total protein ve globülin miktarında rakamsal artış, albümin miktarında ise rakamsal azalma tespit edilmiştir. Ancak istatistik olarak bir fark oluşmamıştır ( $p>0,05$ ).

Benzer çalışmalarda atlara uygulanan yüksek ve kaliteli protein içeren beslenme programlarıyla daha çok kas yoğunluğu ve enerji metabolizmasında oluşum değişimleri takip edilmiştir.

Waghmare ve ark. (9), yılan zehirine karşı hiperimmunizasyon sağlamak için atlarda yapılan bir çalışmada 33 tane ata iki hafta arayla yılan zehiri verilmiş ve atlardan 0,14,21,30 ve 42. haftada kan alınarak biyokimyasal ve hematolojik parametrelerine bakıldığında immunizasyonun başlangıcında hemoglobin miktarı düşerken sonra normal seviyesine geldiği, serumda total protein ve globülin miktarı artarken albümin miktarında hafif bir düşüş gözlenmiştir. Serum kreatin, bilirubin, alkalın fosfat ve kan üre-nitrojen değeri değişmemiştir. Çalışmamızda Akrep zehirine karşı elde edilen kanlarda biyokimyasal parametrelerden total protein, albümin, globülin değerlerinin kontrol ve deneme grupları arasında sayısal artış ve azalışlar tespit edilmesine rağmen istatistiksel olarak farklılık oluşturmamıştır.

Smith ve ark. (10), ratlarda yapılan bir çalışmada; rasyonlarına buğday gluteni, soya proteini, lizin ve metiyonin eklenmesi ile, hepatik nitrojen ve ağırlık kazanımı artırmış, sadece soya proteini ve metiyonin ilavesi, antikor titresini azaltmıştır. Lizin ve buğday gluteni ilavesi antikor titresini değiştirmemiştir. Benzer şekilde çalışmamızda deneme grubu rasyonu lizin ve metiyonin bakımından zenginleştirilmiştir. Gruplar arasında antikor titresinde değişim oluşmamıştır.

Pablack ve ark.(11), düşük kalitede (%36,7 ve %36,2), orta kalite (%45,0 ve %43,3) ve yüksek kalite protein (%56,1 ve %54,9) içeren yemler ile 6 hafta boyunca beslenen genç kedilerden beslenme programı sonunda toplanan kanlarda lökosit, lenfosit ve diğer kan hücrelerinin sayımında çeşitli kalitede protein içeren diyetlerle beslenen sağlıklı kedilerde proteinin bağışıklık sistemine etkisi çok az olduğu, düşük kalitede beslenen kedilerde monosit aktivitesinin yüksek ve eozinofil granulositlerin düşük olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda yüksek kaliteli protein ile beslenen atların kanlarında lökosit, lenfosit ve monosit değerlerinde değişim gözlenmemiştir.

Sahlu ve ark. (12), farklı rasyonlarla beslenen dişi Ankara Keçilerinin diyetlerinde protein miktarı artmasına bağlı olarak plazmadaki total protein düzeyinin önemli oranda arttığı gözlenmiştir. Yaptığımız çalışmada farklı miktarda protein içeren rasyonlarla beslediğimiz atların kandaki total protein miktarında önemli bir artış tespit edilmemiştir.

Bingöl ve ark (13)., ve Gruys ve ark (14)., akut enfeksiyon sırasında serumda haptogloblin, C-reaktif protein, (CRP)serum amploid A(SAA) proteinler artarken albümin gibi proteinler de azalmaktadır. Vücutta aşırı su kaybına bağlı olarak albuminin plazma miktarı arttığı, kardiovasküler ve gastrointestinal sistemi hastalıklarında, kan ve plazma kayıplarında, karaciğer hastalıklarında ve vücudun ihtiyacı olan besinlerin alınmaması durumlarında miktarının düştüğü de bildirilmiştir. Yaptığımız çalışmada albümin miktarı hayvanlar arasında bireysel farklılık göstermesine rağmen istatistiksel fark oluşturmamıştır.

Sonuç olarak Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğüne bağlı Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Eğitim Araştırma ve Uygulama Çiftliğinde barındırılan akrep serum atlarında antikor titresini, serum toplam protein, albumin, globülin ve bazı hematolojik parametreler belirlenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda akrep serumu atlarında serum albumin ve total protein seviyelerinin fizyolojik sınırlar içerisinde olduğu tespit edilmiştir. Serum üretiminde büyük oranda bireysel farklılıklar tespit edilmiştir. Bu durumda çok hayvan ile üretim yapmak yerine serum verimi yüksek atların belirlenmesi ve çok daha az at ile daha verimli üretim yapılabileceği anlaşılmıştır.



Protein miktarı ve kalitesinin antikor üretiminde olumlu etkisinin istatistik öneme sahip olmasını bireyler arasındaki büyük varyasyonun engellediği düşünülmektedir.

Gelecekte bu konuda yapılacak olan çalışmalarda, iyi kategorize edilmiş homojen gruplarda ve yeterli sayıda birey ile antikor titresinde değişiklikleri ve antikor titresini artırıcı etkisinin gözlenebileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada ortaya çıkan en önemli sonuçlardan birisi, atlar arasındaki antikor üretiminde büyük varyasyonların görülmesidir. Uygun rasyon ve antivenom üretme kapasitesi yüksek atlar kullanılarak üretim maliyetinin önemli ölçüde düşürülebileceği kanaatine varılmıştır.

#### KAYNAKLAR

1. MYLES IA (2014). Fast food fever: Reviewing the impacts of the western diet on immunity. *Nutr J.*, 13(1): 1-17.
2. KENNEDY JF (2001). Stress, Nutrition, and the Immune Response. *Nestle Nutr Workshop Ser Pediatr Program.* 45:173-96. Lin, M.A., Romsos, D.R., Leveille, G.A.: Effect of glycerol on lipogenic enzyme activities and on fatty acid synthesis in the rat and chicken. *J. Nutr.* 1976; 106: 1668-1677.
3. MAGGİNİ S, WİNTERGERST ES, BEVERİDGE S, HORNİG DH. (2007). Select vitamins and trace elements support immune function by strengthening epithelial barriers and cellular and humoral immune responses *British Journal of Nutrition*, 98: 29-35. Simon, A., Schwabe, M. Bergner, H.: Glycerol supplementation to broilers rations with low crude protein content. *Arch. Anim. Nutr.*, 1997, 50: 271-282.
4. SCRİMSHAW NS, TAYLOR CE, GORDON JE (1968). Effects of infections on nutritional status. In *Interactions of Nutrition and Infection*, 44-46. Narayan, K.A., McMullen, J.J., Wakefield, T., Calhoun, W.K.: Influence of dietary glycerol on the serum lipoproteins of rats fed a fat-free diet. *J. Nutr.*, 1977; 107: 2153-5163.
5. CALDER, PC, JACKSON AA (2000). Under-nutrition, infection and immune function. *Nutr Res Rev*, 13: 3-29.
6. CALDER PC, KEW S (2002). The immune system: a target for functional foods? *Br J Nutr*, 88(2):165-177
7. KİM SW, MATEO RD, YİN YL, WU G (2007). Functional amino acids and fatty acids for enhancing production performance of sows and piglets. *Asian-Aust J Anim Sci*, 20:295-306.
8. PENG Lİ, YU-LONG YİN, DEFA Lİ, SUNG WOO KİM, GUOYAO WU (2007). Amino acids and immune function, Review Article, *Br J Nutr.*, 98 :237-252.
9. WAGHMAREA AB, SALVİA NC, DEOPURKARB RL, SHENOYC PA, SONPETKARD JM (2014). Evaluation of health status of horses immunized with snakevenom and montanide adjuvants, IMS 3012 (nanoparticle), ISA 206 and ISA 35 (emulsion based) during polyvalent snake antivenom production: Hematological and biochemical assessment. *Toxicon*, 82: 83-92.
10. SMİTH MM, KENNEY MA (1969). Effect of fish-corn mixtures on growth and antibody formation in rats. *J Am Diet Assoc.*, 54:500-503.
11. PABLACK N, KOHN B, DOHERR MB, ZENTEK J (2017). Impact of Dietary Protein Concentration and Quality on Immune Function of Cats. Douglas Thamm, Colorado State University, UNITED STATES.
12. SAHLU T, FERNANDEZ JM, LU, CD, MANNING R. (1992). Dietary protein level and ruminal degradability for mohair production in Angora Goats. *J. Anim. Sci.*, 70:1526-1533.
13. BİNGÖL, G. (1972). Kan serumu proteinleri, A.Ü. Vet. Fak. Kütüphanesi Ankara.
14. GRUYS E, TOUSSAİNT MJM, NİEWALD TA (2005). Acute phase reaction and acute phase proteins. *J Zhejiang Univ Sci*, 11: 1045-1056.

**THE EFFECT OF COLOSTRUM QUALITY ON SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS IN CALVES WITH NEONATAL SEPSIS**

**NEONATAL SEPSİSLİ BUZAĞILARDA KOLOSTRUM KALİTESİNİN BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİSİ**

**Mert SEZER<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Dr. Öğr. Üyesi, Kafkas University, Faculty of Veterinary Medicine, Internal Diseases, Kars, Türkiye

<sup>1</sup>ORCID ID: 0000-0003-1691-7764

**Enes AKYÜZ<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>Dr. Öğr. Üyesi, Kafkas University, Faculty of Veterinary Medicine, Internal Diseases, Kars, Türkiye

<sup>2</sup>ORCID ID: 0000-0002-3288-2058

**Mushap KURU<sup>3</sup>**

<sup>3</sup>Doç. Dr, Kafkas University, Faculty of Veterinary Medicine, Obstetrics and Gynecology, Kars, Türkiye

<sup>3</sup>ORCID ID: 0000-0003-4409-251X

**ABSTRACT**

In this study, the effect of colostrum quality on some biochemical parameters in calves with neonatal sepsis was aimed. In the study, a total of 21 neonatal calves (10 females, 11 males), aged 1-10 days, 7 with sepsis with adequate colostrum, 7 with sepsis with insufficient colostrum, and 7 with healthy (control group) with adequate colostrum were used in the study. All of the calves included in the study were obtained from sick and healthy calves who came to Kafkas University Veterinary Faculty Clinics. Calves meeting the criteria for sepsis were included in the study. Respirations per minute, pulse rates and rectal temperatures were recorded from the physical examination findings of all calves in the study. From the animals, 10 mL blood samples were taken once from the jugular vein into gel serum tubes and K<sub>2</sub>EDTA tubes for complete blood count. Serum samples were measured in an autoanalyzer (Mindray BS120<sup>®</sup>, Mindray Medikal Teknoloji, Istanbul, Turkey). Total leukocyte count and some other blood parameters were measured in a complete blood count device (VG-MS4e<sup>®</sup>, Melet Schloesing, France). Sodium sulfide precipitation test was performed to determine the quality of colostrum from serum samples. As a result of the test, those with IgG levels below 500 mg/dL were found to be insufficient, and those above 1500 mg/dL were found to be sufficient. In this way, the groups were divided into 3 groups as insufficient and control in calves with sepsis. Statistically significant results were found between respirations per minute (P=0.030) and pulse rates (P<0.001) from physical examination findings. The total leukocyte count was found to be  $25.27 \times 10^3 / \mu\text{L}$  in the adequate group,  $13.18 \times 10^3 / \mu\text{L}$  in the insufficient group, and  $11.16 \times 10^3 / \mu\text{L}$  in the control group (P=0.024). In addition, statistically significant results were found between the groups in terms of granulocyte count (P=0.018) and monocytes count (P=0.044). Although there were differences between the groups in other hematological parameters, no statistically significant results were found (P>0.05). Among the serum biochemical parameters, creatine kinase (CK) was statistically significant between the groups (P=0.030). No statistically significant results were found in other biochemical parameters alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), gamma glutamyl transferase (GGT), alkaline phosphatase (ALP), urea, creatinine, albumin and glucose levels (P>0.05). As a result, it was determined that colostrum quality had an effect on hematological and some biochemical parameters in calves with neonatal sepsis.

**Keywords:** Calf, Hematology, Sepsis, Serum Biochemistry.

## ÖZET

Çalışmada, neonatal sepsisli buzağılarda kolostrum kalitesinin bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkisi amaçlanmıştır. Çalışmada 1-10 günlük yaşlar arasında (10 dişi, 11 erkek), 7 yeterli kolostrum almış sepsisli, 7 yetersiz kolostrum almış sepsisli, 7 yeterli kolostrum almış sağlıklı (kontrol grubu) olmak üzere toplam 21 neonatal buzağı çalışmada kullanılmıştır. Çalışmaya dahil edilen buzağuların tamamı Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Kliniklerine gelen hasta ve sağlıklı buzağulardan temin edilmiştir. Sepsis kriterlerine bakılarak kriterleri sağlayan buzağular çalışmaya dahil edildi. Çalışmadaki tüm buzağuların fiziksel muayene bulgularından dakikadaki solunum, nabız sayıları ve rektal ısıları kaydedildi. Hayvanlardan, jugüler venden 10 mL kan örneği bir defa jelli serum tüplerine ve tam kan sayımı için K<sub>2</sub>EDTA'lı tüplere alındı. Alınan serum örnekleri, otoanalizörde (Mindray BS120<sup>®</sup>, Mindray Medikal Teknoloji, İstanbul, Türkiye) ölçüldü. Tam kan sayımı cihazında (VG-MS4e<sup>®</sup>, Melet Schloesing, Fransa) total lökosit sayısı ve diğer bazı kan parametreleri ölçüldü. Alınan serum örneklerinden kolostrum kalitesini belirlemek için sodyum sülfid presipitasyon testi yapıldı. Test sonucunda IgG seviyesi 500 mg/dL'nin altında olanlar yetersiz, 1500 mg/dL'nin üzerinde olanlar yeterli olarak belirlendi. Bu şekilde gruplar sepsisli buzağılarda yeterli yetersiz ve kontrol olarak 3 gruba ayrıldı. Fiziksel muayene bulgularından dakikadaki solunum (P=0,030) ve nabız sayıları (P<0,001) arasında istatistiksel düzeyde anlamlı sonuç bulunmuştur. Total lökosit sayısı yeterli grupta  $25,27 \times 10^3 /\mu\text{L}$ , yetersiz grupta  $13,18 \times 10^3 /\mu\text{L}$  ve kontrol grubunda  $11,16 \times 10^3 /\mu\text{L}$  olarak istatistiksel düzeyde anlamlı sonuç bulunmuştur (P=0,024). Ayrıca granülosit sayısı (P=0,018) ve monosit sayısı (P=0,044) arasında da gruplar arasında istatistiksel düzeyde anlamlı sonuç bulunmuştur. Diğer hematolojik parametrelerde gruplar arasında farklılıklar olmasına rağmen istatistiksel düzeyde anlamlı sonuç bulunamamıştır (P>0,05). Serum biyokimyasal parametrelerden kreatin kinaz (CK) gruplar arasında istatistiksel düzeyde anlamlı sonuç bulunmuştur (P=0,030). Diğer biyokimyasal parametreler alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), gamma glutamil transferaz (GGT), alkalen fosfat (ALP), üre, kreatinin, albümin ve glukoz düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunamamıştır (P>0,05). Sonuç olarak neonatal sepsisli buzağılarda kolostrum kalitesi hematolojik ve bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkisi olduğu belirlendi.

**Anahtar Kelimeler:** Buzağı, Hematoloji, Sepsis, Serum Biyokimyası.

## 1. INTRODUCTION

The neonatal period is called the neonatal period between 0-28 days after birth and it is a very important and critical period (Tokgöz et al., 2013). Calves are very susceptible to diseases during this period. In this period, mistakes made in herd management threaten the life of the calves and adversely affect the development of the calves in the following period. Calves need quality care and feeding during this period (Svensson et al., 2003; Koyuncu & Karaca, 2018). Perhaps the most important issue that closely concerns our country's animal husbandry is calf deaths. Sepsis, respiratory system diseases and diarrhea have an important role among calf deaths (Akyüz et al., 2017; Akyüz & Gökce, 2021). Neonatal period the most risky time for calves is the first period of their lives. Diarrhea, sepsis and respiratory system diseases have the biggest share among the causes of mortality. As a result of infection, sepsis that will cause multi-organ failure may develop in calves and the risk of death may increase (Chatre et al., 2017; Basoglu et al., 2018). Sepsis is more severe in neonatal calves that have not received quality and adequate colostrum. Passive transfer failure constitutes a serious source of mortality for calves in the early stages of their lives (Basoglu et al., 2018; Akyüz et al., 2019; Akyüz et al., 2022). Bacteremia and sepsis are frequently observed in diarrhea caused by *E. coli* in neonatal calves (Radostits et al., 2006). Especially with the proliferation of bacteria such as *E. coli* and salmonella, it will cause the health status of the host to become more dangerous (Radostits et al., 2006; Akyüz et al., 2016). Considering the etiology of calf diarrhea, many reasons can be listed. These include viral, bacterial and protozoal agents. In general, the etiology of calf diarrhea is seen in the form of mixed infections rather than a single factor (Ok et al., 2009). Infectious-non-infectious factors and factors can play a role in diarrhea in many ways. It activates the live defense mechanisms against the inflammatory situation created by these infectious agents. Generalized inflammatory response syndrome (SIRS) against general infectious agents as a defense response and sepsis as a complication may develop. Some symptoms occur after sepsis occurs.

Some of these findings can be counted as decreased interest in the environment, anorexia and diarrhea. Apart from these, the severity of symptoms may vary due to individual differences. Some of these findings can be listed as weakening of the sucking reflex, depression, lethargy, decrease in body temperature, increase in respiratory rate, changes in capillary refill time and dehydration (Bonelli et al., 2018; Akyüz & Gökçe, 2021; Akyüz et al., 2022). There are certain criteria when determining sepsis and SIRS. The presence of at least two of the criteria for hypothermia or hyperthermia, tachycardia, tachypnea, increased arterial partial carbon dioxide pressure, leukopenia or leukocytosis, band neutrophil formation with a 10% greater than that is considered SIRS. If the presence of infection accompanies SIRS, it is considered as sepsis (Yıldız et al., 2018; Beydilli & Gökçe, 2019; Akyüz & Gökçe, 2021). Antibiotics can be administered orally and parenterally in calves with neonatal sepsis. In addition, supportive treatments including non-steroidal anti-inflammatory, vitamins A, B, C, D and E, which can help the recovery of the calf with sepsis, can be applied (Akyüz & Gökçe, 2021; Çitil & Gökçe, 2013).

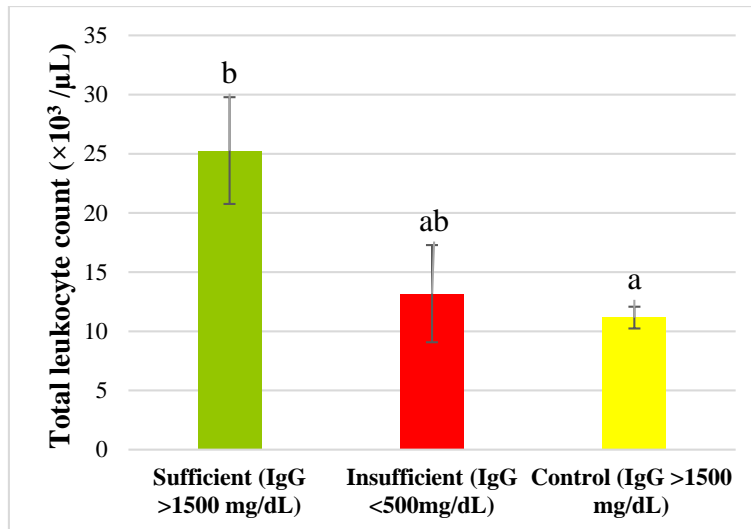
In this study, the effect of colostrum quality on some hematological and biochemical parameters in calves with neonatal sepsis was aimed.

## 2. MATERIAL AND METOT

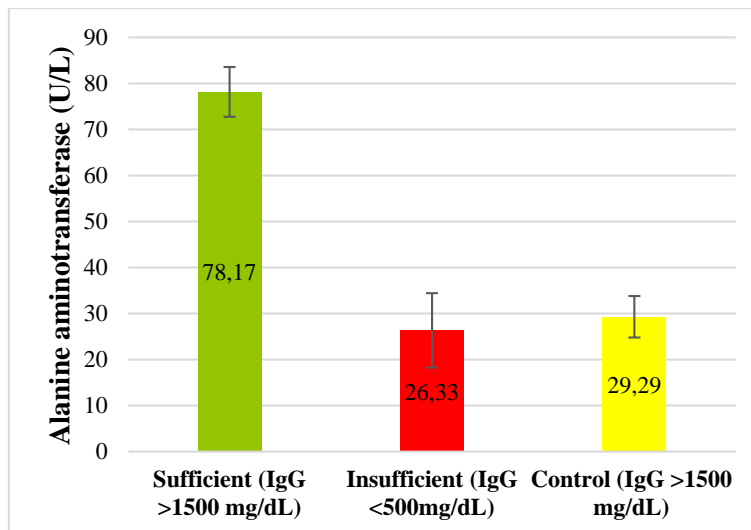
A total of 21 neonatal calves (10 females, 11 males), between the ages of 1-10 days, 7 with sepsis with adequate colostrum, 7 with sepsis with insufficient colostrum, and 7 with healthy (control group) with adequate colostrum were used in the study. All of the calves included in the study were obtained from sick and healthy calves who came to Kafkas University Veterinary Faculty Clinics. Calves meeting the criteria for sepsis were included in the study. Respirations per minute, pulse rates and rectal temperatures were recorded from the physical examination findings of all calves in the study. From the animals, 10 mL blood samples were taken once from the jugular vein into gel serum tubes and K<sub>2</sub>EDTA tubes for complete blood count. Serum samples were measured in an autoanalyzer (Mindray BS120<sup>®</sup>, Mindray Medikal Teknoloji, İstanbul, Türkiye). Total leukocyte count and some other blood parameters were measured in a complete blood count device (VG-MS4e<sup>®</sup>, Melet Schloesing, France). Sodium sulfide precipitation test was performed to determine the quality of colostrum from serum samples. As a result of the test, those with IgG levels below 500 mg/dL were found to be insufficient, and those above 1500 mg/dL were found to be sufficient. In this way, the groups were divided into 3 groups as insufficient and control in calves with sepsis.

## 3.RESULTS

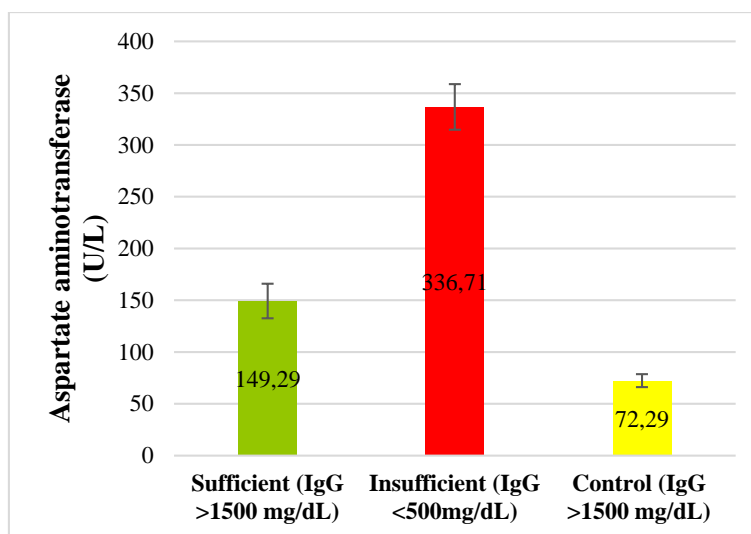
Statistically significant results were found between respirations per minute ( $P=0.030$ ) and pulse rates ( $P<0.001$ ) from physical examination findings. The total leukocyte count was found to be  $25.27 \times 10^3/\mu\text{L}$  in the adequate group,  $13.18 \times 10^3/\mu\text{L}$  in the insufficient group, and  $11.16 \times 10^3/\mu\text{L}$  in the control group ( $P=0.024$ , Figure 1). In addition, statistically significant results were found between the groups in terms of granulocyte count ( $P=0.018$ ) and monocytes count ( $P=0.044$ ). Although there were differences between the groups in other hematological parameters, no statistically significant results were found ( $P>0.05$ ). Among the serum biochemical parameters, creatine kinase (CK) was statistically significant between the groups ( $P=0.030$ , Figure 9). Other biochemical parameters alanine aminotransferase (ALT, Figure 2), aspartate aminotransferase (AST, Figure 3), gamma glutamyl transferase (GGT, Figure 4), alkaline phosphatase (ALP, Figure 5), creatinine (Figure 6), urea (Figure 7), albumin (Figure 8) and glucose (Figure 10) levels were not statistically significant ( $P>0.05$ ). In conclusion, the neonatal period is a critical period for calves. This is the period when calf losses are the highest in our country as in the whole world. Preventive medicine measures to be taken for this period will prevent neonatal calf diarrhea as well as prevent many other infectious and non-infectious diseases. In this critical period, we think that adequate and appropriate delivery of high quality colostrum to the calf will have a positive effect on blood parameters and increase its resistance to diseases.



**Figure 1.** Total leukocyte levels of calves in the study.



**Figure 2.** Alanine aminotransferase levels of calves in the study.



**Figure 3.** Aspartate aminotransferase levels of calves in the study.

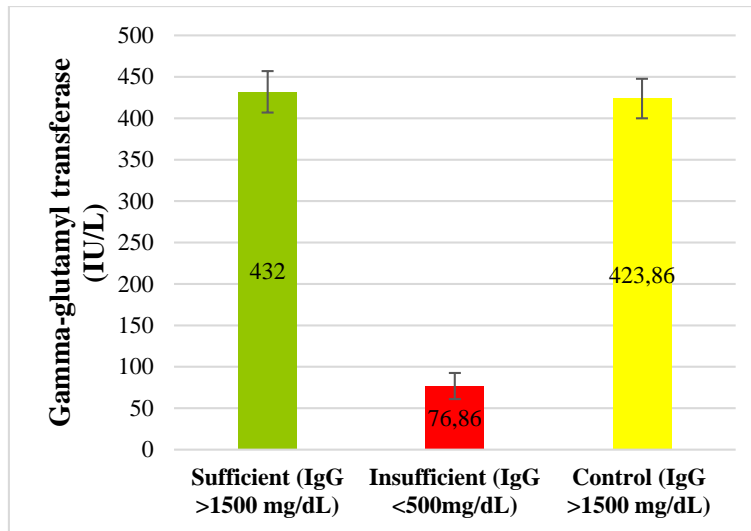


Figure 4. Gamma-glutamyl transferase levels of calves in the study.

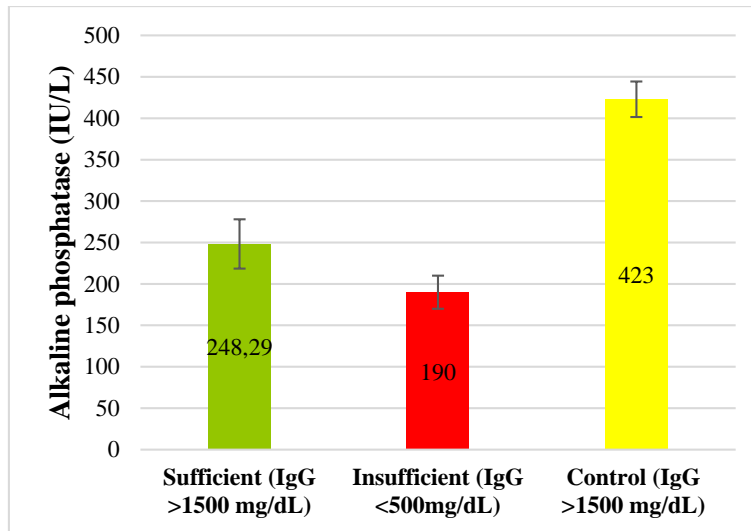


Figure 5. Alkaline phosphatase levels of calves in the study.

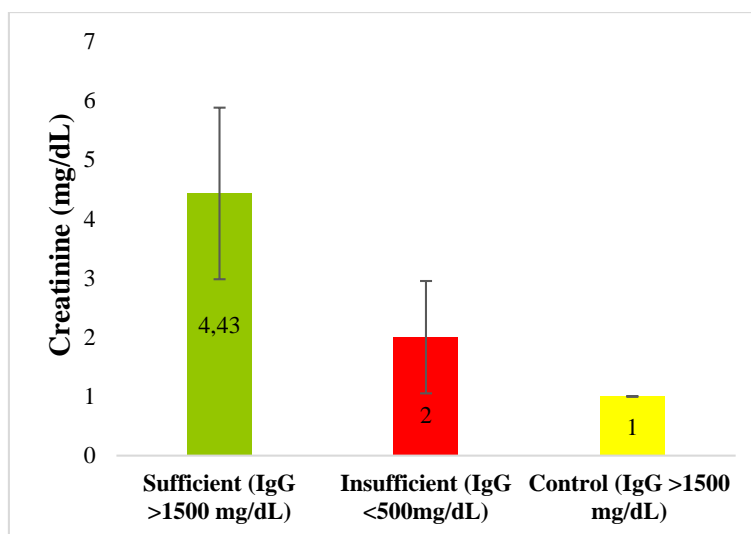


Figure 6. Creatinine levels of calves in the study.

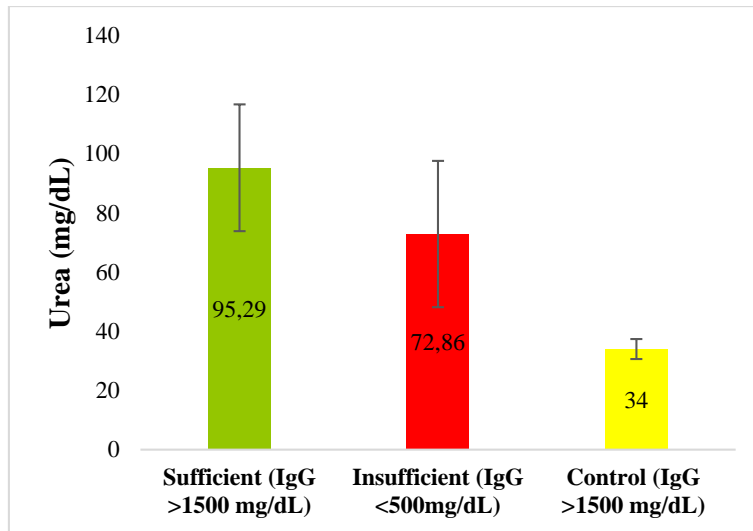


Figure 7. Urea levels of calves in the study.

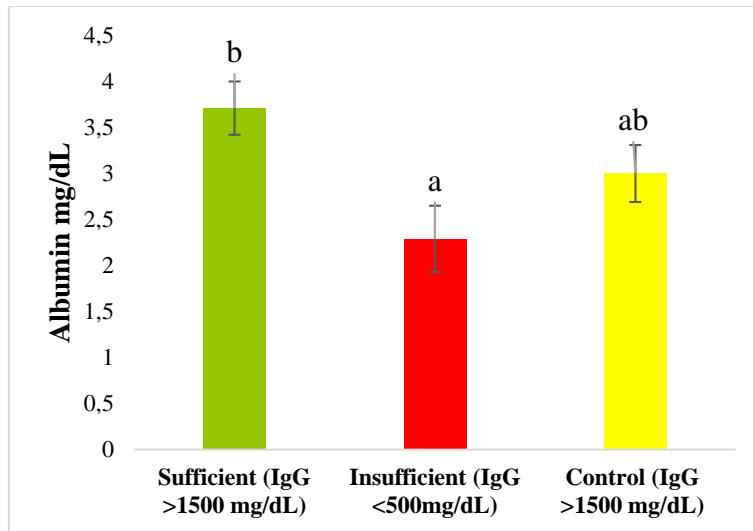


Figure 8. Albumin levels of calves in the study.

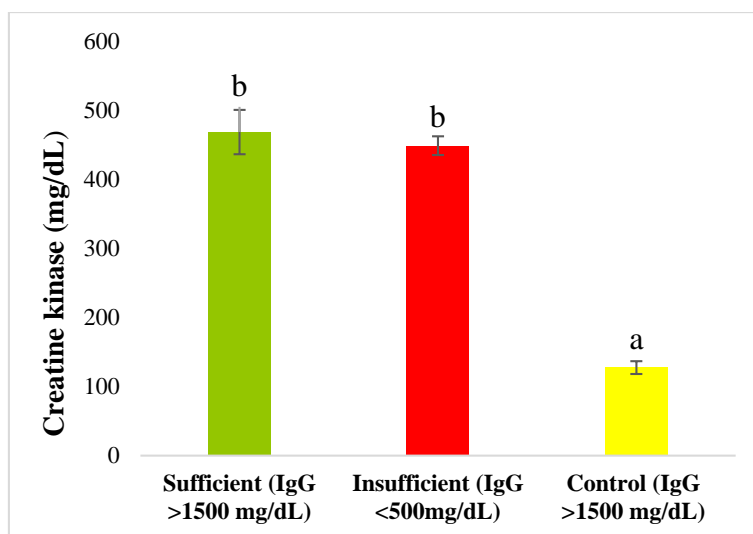
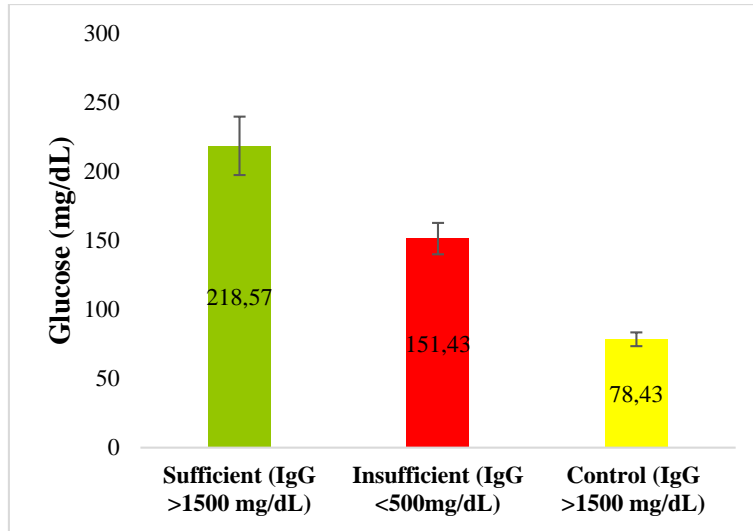


Figure 9. Creatine kinase levels of calves in the study.



**Figure 10.** Glucose levels of calves in the study.

#### 4. REFERENCES

- Akyüz, E., Coşkun, A., & Şen, İ. (2016). Deneysel endotoksemi oluşturulan buzağılarda sıvı tedavisinin hemodinamik parametreler üzerine etkisi. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences*, 32, 246-254.
- Akyüz, E., Uzlu, E., Sezer, M., Kuru, M., & Gökce, G. (2019). Changes in calcium, phosphorus and magnesium concentrations in neonatal sepsis suspected calves. 4<sup>th</sup> International Congress on Advances of Veterinary Sciences and Techniques (ICAVST).
- Akyüz, E., Sezer, M., Kuru, M. & Naseri, A. (2022). Changes in hematology, some clinical biochemical parameters and mineral levels in neonatal calves with sepsis due to diarrhea. *Van Veterinary Journal*, 33, 26-30.
- Akyüz, E., & Gökce, G. (2021). Neopterin, procalcitonin, clinical biochemistry, and hematology in calves with neonatal sepsis. *Tropical Animal Health Production*, 53, 354.
- Akyüz, E., Naseri, A., Erkiliç, E.E., Makav, M., Uzlu, E., Kirmizigül, A. H., & Gökce, G. (2017). Neonatal buzağı ishalleri ve sepsis. *Kafkas University Institute of Natural and Applied Science Journal*, 10, 181-191.
- Basoglu, A., Sen, I., Meoni, G., Tenori, L., & Naseri, A. (2018). NMRbased plasma metabolomics at set intervals in newborn dairy calves with severe sepsis. *Mediators of Inflammation*, 8016510.
- Beydilli, Y., & Gökçe, H. (2019). Sepsisli Neonatal buzağılarda bazı hematolojik ve biyokimyasal parametrelerin araştırılması. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2, 55-67.
- Bonelli, F., Meucci, V., Divers, T. J., Boccardo, A., Pravettoni, D., Meylan, M., Belloli, A. G., & Sgorbini, M. (2018). Plasma procalcitonin concentration in healthy calves and those with septic systemic inflammatory response syndrome. *Veterinary Journal*, 234, 61-65.
- Chatre, L., Verdonk, F., Rocheteau, P., Crochemore, C., Chrétien, F., & Ricchetti, M. (2017). A novel paradigm links mitochondrial dysfunction with muscle stem cell impairment in sepsis. *Biochimica et Biophysica Acta-Molecular Basis of Disease*, 1863, 2546-2553.
- Çitil, M., & Gökçe, E. (2013). Neonatal Septisemi. *Türkiye Klinikleri Veteriner Bilimleri Dergisi*, 4, 62-70.
- Koyuncu, M., & Karaca, M. (2018). Buzağılarda yaşama gücünün anahtarı; "Kolostrum". *Journal of animal production advances*, 59, 67-78.



- Ok, M., Güler, L., Turgut, K., Ok, Ü., Şen, I., Gündüz, I. K., Birdane, M. F., & Güzelbekteş, H. (2009). The studies on the aetiology of diarrhoea in neonatal calves and determination of virulence gene markers of *Escherichia coli* strains by multiplex PCR. *Zoonoses and Public Health*, 56, 94-101.
- Radostits, O., Gay, C., Hinchcliff, K., & Constable, P. (2006). *Veterinary Medicine*. In: Radostits, O., Gay, C., Hinchcliff, K., Constable, P. (Eds), *Veterinary Medicine*, 10<sup>th</sup> Ed. Saunders Ltd.
- Svensson, C.K., Lundborg, U.E., & Olsson, S.O. (2003). Morbidity in Swedish dairy calves from birth to 90 days of age and individual calf-level risk factors for infectious diseases. *Preventive Veterinary Medicine*, 58, 179-197.
- Tokgöz, B.S., Özdemir, R., Turut, N., Mirioğlu, M., İnce, H., Mahanoğlu, B., Yoldas, A., & Tuzcu, N. (2013). Adana bölgesinde görülen neonatal buzağı enfeksiyonlarının morbidite ve mortaliteleri ve risk faktörlerinin belirlenmesi. *The Journal of Adana Veterinary Control and Research Institute*, 3, 7-14.
- Yıldız, R., Beslek, M., Beydilli, Y., Özçelik, M., & Biçici, Ö. (2018). Evaluation of platelet activating factor in neonatal calves with sepsis. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 89, 66-73.

**KIRIM KONGO KANAMALI ATEŞ HASTALIĞI VE KENELERDEN KORUNMAK İÇİN  
KULLANILAN REPELLENT MADDELER**

**CRIMEAN CONGO HEMORRHAGIC FEVER AND REPELLENTS USED TO  
PROTECT AGAINST TICKS**

*Dr. Öğr. Üyesi Pınar PORTAKAL*

*Çankırı Karatekin Üniversitesi, Gıda ve Tarım Meslek Yüksekokulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim  
Bölümü, Çankırı.*

*ORCID NO: 0000-0002-5994-5872*

**ÖZET**

Keneler, insanlar ve hayvanlar için çok tehlikeli hastalıkların bulaşmasına aracılık eden vektörlerdir. Çengel şeklindeki vantuzlu bacaklarıyla deriye rahatça yapışarak ağızlarıyla kan emerler, doyuma ulaştıktan sonra konaklarından ayrılarak yere düşerler ve otlara tırmanarak yaşam döngülerine devam ederler. Kenelerden insanlara bulaşan hastalıkların en önemlisi, ülkemiz de dahil dünyanın birçok bölgesinde ölümcül bir hastalık olan Kırım Kongo Kanamalı Ateşidir (KKKA). Ayrıca, insanlarda Babezyoz, Erlihyoz Q Humması, Lyme hastalığı, Ensefalit, Akdeniz Benekli Ateşi, hayvanlarda ise ekonomik kayıplara sebep olan ve en sık görülen hastalıklar Babesiosis, Anaplazmosis ve Theilariosis'dir. KKKA hastalığı keneler aracılığıyla taşınan zoonoz karakterli viral bir hastalıktır. Hastalık etkeni bir RNA virüsü olup Bunyaviridae ailesine bağlı Nairovirüs grubundandır. KKKA hastalığı, virüs ile enfekte kenenin insanlara tutunması ve hastalık etkeninin insana bulaşması sonucu oluşur. Hastalığın inkübasyon süresi 1-3 gün arasında olup en fazla 9 gündür. İnsanlarda yüksek ateş, baş ağrısı, iştahsızlık, bulantı-kusma, halsizlik sık görülen semptomlar arasındadır. KKKA vakaları genellikle bahar ve yaz aylarında kenelerin aktifleştiği dönemlerde görülmektedir. Ülkemizde KKKA hastalığı ilk defa 2002 yılında Tokat ve çevresindeki illerde dikkatleri çekmiş ve 2003 yılında kesin tanısı konmuştur. Hastalıkların önlenmesi için uygulanan yöntemlerinden biri de hastalıkların kaynağı ile mücadeledir. Bu mücadele yöntemleri ya hayvanlar üzerindeki kenelerin akaraisidlerle kontrolü ya da kene ile teması kesecek repellent madde kullanımınıdır. Repellent özellikteki maddeler deriye, giysilere, perdeler, cibinik ve ağlara uygulandıklarında kene, karasinek, sivrisinek gibi zararlıları uzaklaştıran kimyasal veya bitkisel maddelerdir. Bu maddeler, krem, çözelti, basınçla sıkıştırılmış tüp, losyon gibi formülasyonlarla hazırlanarak doğrudan deriye uygulanabildikleri gibi giysilere emdirilerek de uygulanabilmektedir. Ayrıca kapalı ve açık alanlarda basınçlı püskürtücülerle püskürtülerek kan emen ve rahatsızlık veren zararlılara karşı kullanılmaktadır. Uygulandıkları yerde buharlaşarak kötü koku ve tat oluşturarak etkilerini gösterirler. Bu derlemede KKKA hastalığına dikkat çekilerek kene kaynaklı zoonoz hastalıkların önlenmesi amacı ile kene ile temasın azaltılması yönünde kullanılan repellent madde çeşitleri ve kullanımları değerlendirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Kene, Kırım Kongo Kanamalı Ateşi, repellent.

**ABSTRACT**

Ticks are vectors of very dangerous diseases for humans and animals. They easily adhere to the skin with their hook-shaped suction cup-shaped legs and suck blood with their mouths, after reaching saturation, they leave their hosts, fall to the ground and continue their life cycle by climbing grasses. The most important disease transmitted to humans by ticks is Crimean-Congo Hemorrhagic Fever (CCHF), which is a fatal disease in many parts of the world, including Turkey. In addition, Babesiosis, Erlihyosis Q Fever, Lyme disease, Encephalitis, Mediterranean spotted fever, Babesiosis, Anaplasmosis and Theilariosis are the most common diseases that cause economic losses in animals. CCHF is a zoonotic viral disease transmitted by ticks. The causative agent is an RNA virus and belongs to the Nairovirus group of the Bunyaviridae family. CCHF disease occurs when a tick infected with the virus attaches to humans and the disease agent is transmitted to humans. The incubation period of the disease

is between 1-3 days and maximum 9 days. High fever, headache, loss of appetite, nausea, vomiting and weakness are among the common symptoms. CCHF cases are usually seen in spring and summer when ticks become active. In our country, CCHF disease first attracted attention in Tokat and its surrounding provinces in 2002 and a definitive diagnosis was made in 2003. One of the methods applied for the prevention of diseases is the fight against the source of diseases. These control methods are either the control of ticks on animals with acaricides or the use of repellent substances to prevent contact with ticks. Repellents are chemical or herbal substances that repel pests such as ticks, houseflies and mosquitoes when applied to skin, clothing, curtains, mosquito nets and nets. These substances can be prepared in formulations such as creams, solutions, pressurized tubes, lotions and applied directly to the skin or impregnated on clothing. They are also sprayed with pressurized sprayers in indoor and outdoor areas and used against pests that suck blood and cause discomfort. They evaporate where they are applied and show their effects by creating bad odor and taste. In this review, the types and uses of repellents used to reduce contact with ticks in order to prevent tick-borne zoonotic diseases by drawing attention to CCHF disease were evaluated.

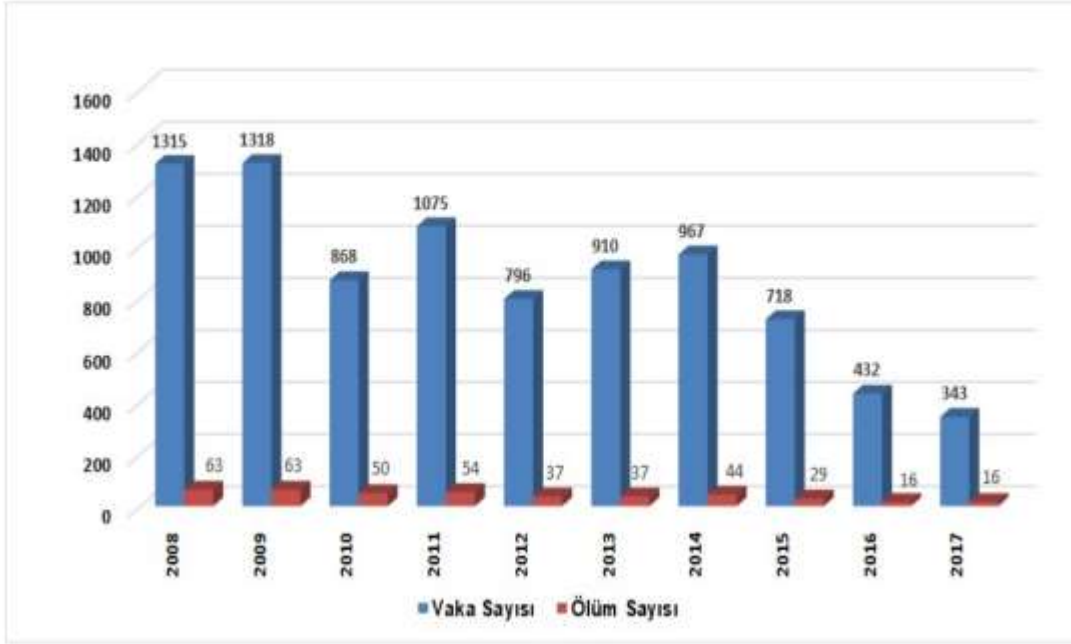
**Keywords:** Tick, Crimean Congo Hemorrhagic Fever, repellent.

## 1. GİRİŞ

Keneler, dünya çapında sivrisineklerden sonra hayvanlardan ve insanlardan kan emerek beslenen, en çok bakteriyel, viral, protozoer hastalık etkenlerinin taşınmasına ve bulaşmasına aracılık eden ektoparazitlerdir (Parola ve Raoult, 2001). Meralar, çalılıklar, yeşil ve yüksek otlu kırsal alanlarda görülmesinin yansira şehirlerdeki yeşil alanlarda da görülmektedir. Kene kaynaklı enfeksiyonlara kırsal alanda hayvancılık yapan insanlarda daha sık rastlanmaktadır (Dik, 2015). Tüm dünyada yaklaşık 900 kadar kene türü tanımlanmışken Ülkemizde 50'den fazla kene türü bulunmaktadır (Aydın ve Coşkun, 2019). Kenelerden insanlara bulaşan hastalıkların en önemlileri, ülkemizde dahil dünyanın birçok bölgesinde endemik karakterli ölümcül bir hastalık olan Kırım Kongo Kanamalı Ateşidir, bunun yansira Babezyoz, Erlihyoz Q Humması, Lyme hastalığı, Ensefalit, Akdeniz Benekli Ateşi, hayvanlara bulaşan ve ekonomik kayıplara sebep olan ve en sık görülen hastalıklar Babesiosis, Anaplazmosis ve Theilariosisdir (Kılıç,2008; Pala ve Melikoğlu, 2021).

Kırım Kongo Kanamalı Ateş (KKKA), Nairovirüsün neden olduğu ateş, halsizlik, iştahsızlık, baş ve kas ağrıları, bulantı, kusma, ishal, cilt içinde ve farklı bölgelerde kanamalarla seyreden ölüm oranı yüksek zoonoz bir hastalıktır. Hastalık etkeni Bunyaviridae ailesine bağlı Nairovirüs grubundaki bir RNA virus olup Ixodidae ailesine bağlı daha çok Ixodes ve Hyalomma soylarındaki keneler vektörlük yapmaktadır (Çiçek, 2009; Pala ve Melikoğlu, 2021). Hastalık ilk olarak 1944 ile 1945 yılları arasında Kırım bölgesinde ortaya çıkmış kene ile ilişkilendirilmiş, daha sonra 1956 yılında Kongodaki görülen vakalardan izole edilen etken 1994 yılında Kırımdaki vakalardan izole edilen etkenlerle aynı olduğu anlaşılınca 1969 yılında hastalık KKKA olarak adlandırılmış (Elaldı,2004; Ergonul,2006). Günümüzde de Asya, Avrupa, Afrika ve Orta Doğuda yaygın olarak görülmektedir (Kırdar ve Ertuğrul 2009). Ülkemiz de ise ilk defa 2002 yılında Tokat ilinde tespit edilmiş olup Çankırı, Amasya, Çorum, Yozgat, Kastamonu, Bolu, Erzurum, Bayburt, Erzincan, Gümüşhane, Bayburt, Sivas, Kastamonu, Artvin, Samsun, Ardahan, Tunceli, Bingöl, Karabük ve Giresun illeri başta olmak üzere geniş bir alan da görülmüştür. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Zoonotik ve Vektörel Hastalıklar Dairesi Başkanlığı verilerine göre Ülkemizde 2008 den 2017 yılına kadar 8742 vaka ve 409 ölüm sayısı bildirilmiştir (<https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/zoonotikvektorel-kkka/zoonotikvektorel-kkka-istatistik>) (Grafik 1).

Grafik 1 - Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Vakalarının ve Ölümünün Yıllara Göre Dağılımı, Türkiye, 2008-2017



Hastalığın belirli bir tedavi şekli olmayıp semptomatik tedavi uygulanmaktadır. Ayrıca hastalığa aşı geliştirme çalışmaları devam etmektedir. KKKA hastalığının kontrolünde Sağlık Bakanlığı ile TarımOrman Bakanlığı tarafından hastalık ve korunma önlemleri konusunda bilgilendirilme ve toplumda farkındalık oluşturulma çalışmaları yürütülmektedir.

## 2. KENEDEN KORUNMAK İÇİN KULLANILAN REPELLENT MADDELER

Kişisel korunma hastalık kontrolü için oldukça önemlidir. Kişisel korunma yöntemlerinden biri de kene ile teması kesecek repellent madde kullanımıdır. Repellentler deriye, giysilere, perdeler, cibinik ve ağlara uygulandıklarında kene, karasinek, sivrisinek gibi zararlıları uzaklaştıran kimyasal veya bitkisel maddelerdir. Bu maddeler, krem, çözelti, basınçla sıkıştırılmış tüp, losyon gibi formülasyonlarla hazırlanarak doğrudan deriye uygulanabildikleri gibi giysilere emdirilerek de uygulanabilmektedir. Ayrıca kapalı ve açık alanlarda (evlerin zemini, duvar oyuk ve çatlakları, hayvan barınakları, meralar, otlaklar, turistik alanlar vs.) basınçlı püskürtücülerle püskürtülerek kan emen ve rahatsızlık veren zararlılara karşı kullanılmaktadır. Uygulandıkları yerde buharlaşarak kötü koku ve tat oluşturarak etkilerini gösterirler (Brown ve Hebert, 1997; Kaya ve Bilgili 2007). İdeal bir repellent madde bireysel kullanımlarda toksik ve alerjik etkili olmamalı ve çevresel kullanımlarında da kalıntıya sebep olmamalıdır.

Kenelere karşı kullanılan repellent maddeler sentetik veya bitkisel kaynaklı olabilmektedir (Anonim 2023; Chavasse ve Yap 1997). İlk sentetik repellentler; Dimetil Fitalat (DMP), indalon, etil heksandiol (Rutgers 612), modern sentetik repellentler; N, N-Dietil-meta-toluamide (DEET), permetrin, N, N-dietil-2-fenil-asetamid (DEPA). Bitkisel kaynaklı repellentler; bitkilerin bulunan timol, karvakrol, linalool gibi yapılarındaki uçucu yağ ve bileşenleridir. DMP ilk olarak çözücü olarak Amerika'da keşfedilmiş daha sonra geniş etkili bir repellent madde olarak uzun yıllar dünya genelinde kullanılmıştır. Plastik malzemelere zarar vermesi olumsuz yönü olarak bildirilmiştir (Bissinger ve Roe, 2010; ). Ayrıca mukoza ve gözlerde irkiltici etkisinin yanısıra Ames testi sonucu az da olsa mutajen etkisinin olduğu belirlenmiştir (Kaya ve Bilgili 2007). İndalon maddesinin buharlaşma özelliğinin az olması sebebiyle keneye doğrudan temas etmesi gerekmektedir. Saha çalışmalarında hem direk deriye uygulamalarda hem de giysilere uygulamalarda oldukça etkili olduğu tespit edilmiştir (Brown ve Hebert, 1997; McMahon, Kröber ve Guerin, 2003). Etil Heksandiol repellent maddesinin, kenelere karşı etkinliği ile ilgili oldukça az çalışma yapılmıştır. Etki süresinin kısa olması kullanımını olumsuz yönde etkilemektedir. Ayrıca son zamanlarda yapılan araştırmalar sonucunda teratojen etkisinden dolayı ABD Çevre Koruma Ajansı (EPA) tarafından gebelerde kullanımı tavsiye edilmemekte ve 1991 yılından

İtibaren ABD ve Kanada'da ürünlerin satışı engellenmiştir. Ülkemizde etil heksandiol içeren ürün bulunmamaktadır (Bissinger ve Roe, 2010; Dinler ve Yavuz, 2010). DEET en yaygın kullanılan repellent maddelerden birisidir ancak yüksek dozlarda uygulandığında uygulandığı bölgeden emilerek sistemik dolaşıma geçerek merkezi sinir sistemini olumsuz yönde etkilediği belirtilmiştir (Katz, Miller ve Hebert, 2008). Permetrin de kene ve artropodlara karşı yaygın olarak kullanılan repellent maddeler arasındadır ancak toksik etkilerinden dolayı doğrudan vücuda uygulanmadan giysilere veya yatak örtülerine emdirilerek kullanılmalıdır (Pages ve ark., 2014; WHO, 1990; Bissinger ve Roe, 2010). DEPA DEET ile aynı dönemlerde geliştirilmiştir. Düşük maliyetli oluşu sebebiyle gelişmekte olan ülkelerce tercih edilmektedir. (Bissinger ve Roe, 2010; Dinler ve Yavuz, 2010).

Sentetik ilaçların çevre kirliliğine, hayvanlarda kullanıldığında ete ve süte karışması, direnç gelişmesi ve maliyetini yüksek olması gibi olumsuz etkileri bulunmaktadır. Bu nedenle alternatif olarak bitki kaynaklı repellent madde çalışmaları önem kazanmaktadır.

Del Fabbro ve Nazzi'nin 2008 yılında fesleğen bitkisinin repellent özelliği üzerinde yaptıkları çalışmada fesleğenin metabolitleri olan eugenol ile linalool repellent etkileri DEET ile karşılaştırılmış eugenolün etkinliği DEET'e yakın çıkarken linaloolün herhangi bir yanıt oluşturmadığı tespit edilmiştir.

2017 yılında Tabari ve arkadaşları *Ixodes ricinus* kene türü üzerinde aromatik tıbbi bitkilerin uçucu yağlarında bulunan monoterpenoidlerden fenoller, timol, karvakrol ve linalool repellent etkinliklerine yönelik yaptıkları çalışmada hem yumurta döneminde üzerine hemde larval dönemdeki etkilerini incelemişler. Test edilen tüm konsantrasyonlarda karvakrol ve timol, permetrin'den daha yüksek bir etkinlik göstererek önemli bir yumurtadan çıkma düşüşüne yol açarken, linalool herhangi bir önemli etkiye neden olmamış. Karvakrol ve timol (%1, 2 ve %5) ile tedavi edilen larvalarda, 24 saat sonra ölüm oranları %100'e ulaşarak permetrin'den daha yüksek bir larvisidal etkinlik gösterirken, linalool ile tedavi edilen larva gruplarında hiçbir etki görülmemiş. Test edilen tüm konsantrasyonlarda karvakrol ve timol, *I. ricinus* üzerinde >%90 kovuculuk göstermiş. Linalool, yalnızca %5'lik konsantrasyonda nadiren etkiliymiş (%50,24 kovuculuk). Genel olarak, bu sonuçlara dayalı olarak, fenoller karvakrol ve timol, *I. ricinus* popülasyonlarını ve ilgili kene kaynaklı hastalıkların yayılmasını kontrol etmek için yeni akarisit formülasyonların geliştirilmesi için aday bileşenler olarak kabul edilebilir.

Alaska sarı sediri (*Chamaecyparis nootkatensis*) uçucu yağında, *Ixodes scapularis* (geyik kenesi) niflerine karşı letal etkileri olan birçok bileşik bulunmakta (nootkatone, carvacrol, valencene-13-ol ve valencene-13-aldehit) olup, potansiyel yeni repellent madde olarak değerlendirilmektedir (Panella ve ark., 2005; Dietrich ve ark., 2006; Yanar, 2022).

2005 yılında Jaenson ve arkadaşları, İsveç'te *Myrica gale* L. (Myricaceae), *Rhododendron tomentosum* (Stokes) *Ledum palustre* L. (Ericaceae) ve *Artemisia absinthium* L. (Asteraceae) bitkilerinin özütleri ve yağları farklı organik çözücüler kullanılarak elde etmiş ve kene kovucu özelliklerini araştırmışlardır.

%10 asetonda seyreltilmiş *R. tomentosum* yağı %95 kovuculuk, etil asetat kullanılarak elde edilen *R. tomentosum* ve *A. absinthium* ekstreleri >%70 kovuculuk, heksan kullanılarak elde edilen *A. absinthium* ekstresi, ~%62 kovuculuk özelliği gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca *M. gale* yağı %10 kovuculuk gösterirken, *I. ricinus* nimfleri üzerinde ~%50 kovuculuk özelliğine sahip olduğunu bulmuşlardır. Bunun yanı sıra gerçekleştirilen bu çalışmada yaprak özütleri veya yağlardaki kimyasal bileşenler de analiz edilmiştir. *M. gale* bitkisinin yağından veya ekstraktından tespit edilen karakteristik uçucular monoterpenler 1,8-cineole, a- terpineol, 4-terpineol ve thujenol; ve *R. tomentosum* bitkisinde mirsen ve palustrol olarak tespit edilmiştir. *A. Absinthium* bitkisinin yaprak ekstraktlarından elde edilen karakteristik uçucular ise sabinen, thujenol, linalool ve geranil asetat gibi oksijene bağlı monoterpenler olarak bulunmuştur. Çalışılan bitki türlerinin akarisit, böcek öldürücü, 'pestisit' ve/veya eklembacaklı kovucu özellikler sergilediği bilinen çok sayıda uçucu madde sentezlediği belirlenmiştir.

Başka bir çalışmada, İsveç menşeli aromatik bitki *Tanacetum vulgare* L. (solucan otu) bitkisinin (Asteraceae) çiçek başlarının uçucu yağlarının kovucu etkisi, *I. ricinus*'un konukçu arayan nimflerine karşı test edilmiş ve uçucu yağların güçlü kene kovuculuğu (%90-100) tanımlanmıştır. Farklı bölgelerden toplanan *T. vulgare* popülasyonlarının farklı kemotiplere sahip olabileceğini, ancak benzer kene kovuculuğu sergilediklerini göstermiş (Pålsson ve ark., 2008).

### 3. SONUÇ

Kene ile mücadele yöntemlerinde kişisel korunmada repellent madde kullanımı çok önemlidir. Özellikle insanlarda KKKK hastalığı, hayvanlarda ekonomik olarak önemli olan babesiosis, anaplazmosis ve theilariosis gibi kene kaynaklı hastalıkların önemine bakıldığında repellent madde kullanımının gerekliliği yadsınmaz. İdeal bir repellent madde toksik etkilere ve çevresel kalıntılara yol açmadan güvenli kullanım sağlamalıdır. Günümüzde kullanılan sentetik repellent maddeler yerine yeni alternatif bitkisel repellent maddelerin gelişmesi için çalışmalara ağırlık verilmelidir.

### 4. KAYNAKLAR

Anonim (2023). Tick Repellents. Massachusetts Department of Public Health (MDPH), www.mass.gov, 20.02.2023.

Aydın, M. F., Coşkun, A. (2019). İnsanlarda kene ile bulaşan hastalık etkenleri ve Türkiye'deki durumu. *Journal of Advances in VetBio Science and Techniques*, 4 (1) , 26-32 . DOI: 10.31797/vetbio.486679

Bissinger, B. W., Roe, R. M. (2010). Tick repellents: past, present, and future. *Pesticide biochemistry and physiology*, 96(2), 63-79.

Brown M, Hebert AA. Insect repellents: An overview. *J Am Acad Dermatol*, 1997; 36 (2): 243-9

Chavasse DC, Yap HH, eds. (1997) *Chemical Methods for the Control of Vectors and Pests of Public Health Importance*. Geneva: World Health Organization.

Elaldı N. (2004). Kırım-Kongo hemorajik ateşi epidemiyolojisi. *Klinik Derg* 2004; 17:151-6.

Ergonul O. (2006). Crimean-Congo haemorrhagic fever. *Lancet Infect Dis* 2006; 6:203-14

Del Fabbro, S., Nazzi, F. (2008). Repellent effect of sweet basil compounds on *Ixodes ricinus* ticks. *Experimental and Applied Acarology*, 45, 219-228.

Dietrich G, Dolan MC, Peralta-Cruz J, Schmidt J, Piessman J, Eisen RJ, Karchesy JJ, 2006. Repellent activity of fractioned compounds from *Chamaecyparis nootkatensis* essential oil against nymphal *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, 43: 957-961

Dik, B (2015). Veteriner Entomoloji. Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim dalı, Selçuk Üniversitesi.

Dinler, O., Yavuz, O. (2010). Kenelrden Korunmak Amacıyla Kullanılan Repellent (Kovucu) Maddeler ve Toksikolojik Değerlendirilmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 199.

Jaenson, T. G., Pålsson, K., Borg-Karlson, A. K. (2005). Evaluation of extracts and oils of tick-repellent plants from Sweden. *Medical and veterinary entomology*, 19(4), 345-352.

Kaya S, Bilgili A. Böcek Kovucular (Repellentler).In: Kaya S, ed. Veteriner Farmakoloji Cilt 2, Baskı 4. Medisan Yayınevi, 2007: 603-4.

(2008). Trakya bölgesi kırsal alanlarında kene ısırığı öyküsü olan kişilerde erlihyoz seropozitifliği (Uzmanlık tezi). <https://dspace.trakya.edu.tr/xmlui/handle/trakya/803>.

Katz, T. M., Miller, J. H., Hebert, A. A. (2008). Insect repellents: historical perspectives and new developments. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 58(5), 865-871.

Kırdar, S., Ertuğrul, M. B. (2009). Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi. *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi*; 10(2): 45- 52

Mauff, A. L., Cartereau, A., Plantard, O., Taillebois, E., Thany, S. H. (2023). Effect of the combination of DEET and flupyradifurone on the tick *Ixodes ricinus*: Repellency bioassay and pharmacological characterization using microtransplantation of synganglion membranes. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 14(1), 102079.

McMahon C, Kröber T, Guerin PM (2003). In vitro assays for repellents and deterrents for ticks: Differing effects of products when tested with attractant or arrestment stimuli. *Med Vet Entomol*; 17: 3708.

- Pages, F., Dautel, H., Duvallet, G., Kahl, O., de Gentile, L., Boulanger, N. (2014). Tick repellents for human use: prevention of tick bites and tick-borne diseases. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 14(2), 85-93.
- Pala E, Melikoğlu M. Kenelerden kaynaklanan hastalıklar (2021). Serdaroğlu S, Kutlubay Z, editör-ler. Derinin Paraziter Hastalıkları. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2021. p.59-67.
- Pålsson, K., Jaenson, T. G., Bäckström, P., & Borg-Karlson, A. K. (2008). Tick repellent substances in the essential oil of *Tanacetum vulgare*. *Journal of medical entomology*, 45(1), 88-93.
- Panella NA, Dolan MC, Karchesy JJ, Xiong Y, Peralta- Cruz J, Khasawneh M, Montenieri JA, Maupin GO, 2005. Use of novel compounds for pest control: insecticidal and acaricidal activity of essential oil components from heartwood of Alaska yellow cedar. *Journal of Medical Entomology*, 42: 352– 358.
- Parola, P., Raoult, D., 2001. Ticks and tick-borne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Clin. Infect. Dis.* 32, 897–928. <https://doi.org/10.1086/319347>.
- Sert Çiçek, H. (2009). Keneler ve Kırım-Kongo Kanamalı Ateşli (KKKA). *Kocatepe Vet J* 2 (2): 61-64
- Tabari, M. A., Youssefi, M. R., Maggi, F., & Benelli, G. (2017). Toxic and repellent activity of selected monoterpenoids (thymol, carvacrol and linalool) against the castor bean tick, *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae). *Veterinary parasitology*, 245, 86-91.
- WHO, 1990. Environmental Health Criteria 94: Permethrin. Geneva. World Health Organization.
- Yanar, K. E. (2022). Pet Hayvanlarında Fitoterapi. *Palandöken Journal of Animal Sciences Technology and Economics*, 1(1), 60-67.

## APPLYING MACHINE LEARNING ALGORITHMS TO ADVANCE MODERN AGRICULTURE

*Pr. Soraya Sedkaoui*

*Department of Economics, University of Khemis Miliana, Algeria*

*ORCID: 0000-0002-7134-2871*

*Pr. Khalida Mohammed Belkebir*

*Department of Economics, University of Khemis Miliana, Algeria*

*Dr. Rafika Benaichouba*

*Department of Economics, University of Khemis Miliana, Algeria*

### ABSTRACT

The study aimed to assess the potential of machine learning (ML) in revolutionizing the field of agriculture, by exploring its ability to improve crop yield prediction, disease diagnosis, and soil type classification. A comprehensive literature review was conducted to analyze the current challenges and limitations in the field of ML and agriculture. The review found that the main challenges include a lack of high-quality data, the need for domain-specific expertise, the complexity of agricultural systems, the cost of data collection and maintenance, and the interpretability of ML models. The study also evaluated the effectiveness of different ML algorithms for crop yield prediction and found that Random Forest, Support Vector Regression, and Gradient Boosting Regression were the most accurate algorithms. This research highlights the potential of ML in agriculture and provides recommendations for future research, including the need for high-quality data, domain-specific expertise, and robust and interpretable ML models. The study serves as a guide for future studies in this field and aims to pave the way for the widespread use of ML in agriculture.

**Keywords:** Machine learning, agriculture, algorithm, data analytics, crop yield prediction.

### INTRODUCTION

Agriculture is a vital industry that supports the survival of human populations around the world. In recent years, there has been a growing interest in using machine learning (ML) algorithms to improve various aspects of agriculture, such as crop yield prediction, precision farming, and pest and disease control. The application of ML in agriculture has the potential to revolutionize the industry by increasing efficiency, reducing costs, and improving crop yields. The use of machine learning (ML) in agriculture has been gaining attention in recent years as a way to improve crop yields, reduce costs, and increase efficiency. ML algorithms can be used for a variety of tasks such as crop yield prediction, precision farming, and pest and disease control. These algorithms can analyze large amounts of data, such as weather and soil data, to make predictions and identify patterns that would be difficult for humans to detect. Additionally, with the advancement of technologies such as drones, sensors, and internet of things, the amount of data available for analysis has grown exponentially, providing further opportunities for ML to be applied in agriculture.

The purpose of this study is to investigate the use of ML algorithms in agriculture and to explore the potential benefits and challenges of this approach. The research question for this study is: *How can ML algorithms be effectively applied in agriculture to improve crop yields and reduce costs?* The methodology for this study will involve a comprehensive literature review of relevant research in the field of ML and agriculture. This will include an analysis of current challenges and limitations in the field, as well as a discussion of the various ML algorithms and techniques that have been used in previous studies. The study will also include an experimental evaluation of the effectiveness of different ML algorithms in a specific agricultural application, such as crop yield prediction.



Overall, this study aims to contribute to the existing body of knowledge on the application of ML algorithms in agriculture and to provide a comprehensive overview of the current state of the field. The study will also provide a framework for future research in this area, and help identify areas where further work is needed. For this, the paper is structured as follows: The paper will begin with the literature review which will provide an overview of relevant research in the field and discuss the current challenges and limitations. The methodology section will describe the ML algorithms and techniques used in the agriculture, as well as its role in enhancing this field. The discussion will present the findings of the study and discuss their implications for the field of agriculture. The conclusion and future work section will summarize the main findings of the study and provide insights for potential future research directions.

## LITERATURE REVIEW

In recent years, there has been a growing body of research on the application of ML algorithms in agriculture. This research has focused on a wide range of topics such as crop yield prediction, precision farming, pest and disease control, and soil and weather monitoring. Researchers have used various ML algorithms such as decision trees, neural networks, and support vector machines to analyze data from various sources such as weather and soil sensors, satellite imagery, and drones. These studies have shown that ML can be effective in improving crop yields, reducing costs, and increasing efficiency in agriculture.

In the area of crop yield prediction, researchers have used ML algorithms such as decision trees and neural networks to predict crop yields based on various factors such as weather data, soil data, and satellite imagery. One such study (You, et al., 2019) used a decision tree algorithm to predict wheat yields in China and found that the algorithm was able to achieve an accuracy of 83.3%. Another study (Akhtar, et al., 2020) used a neural network to predict maize yields in Pakistan and achieved an accuracy of 92.5%. These studies demonstrate the potential of ML algorithms to improve crop yield prediction, which can help farmers make more informed decisions about crop management.

In the area of precision farming, researchers have used ML algorithms to optimize crop management decisions such as irrigation and fertilization. For instance, a study (Liu et al., 2019) used a ML algorithm to predict crop water requirements in real-time and optimize irrigation schedules, which led to a reduction in water usage by 20%. Another study (Shrestha et al., 2018) used a ML algorithm to optimize fertilization schedules and found an increase in crop yields by up to 30%. These studies show the potential of ML algorithms to improve precision farming, which can lead to more efficient use of resources and increased crop yields.

Many other studies have related the topic of machine learning in agriculture: A review by (Gao, et al., 2020) that discusses the use of machine learning in precision agriculture, including applications such as crop yield prediction, soil moisture prediction, and crop growth monitoring. A study by (Ehsani, et al., 2018) that uses machine learning to develop a decision support system for precision irrigation management in greenhouses. A study by (Mohanty, et al., 2020) that uses machine learning to develop a prediction model for disease diagnosis and control in rice plants. A study by (Zhu, et al., 2021) that uses machine learning to develop a prediction model for cotton boll number and boll weight based on sensor data. A study by (Jiang, et al., 2019) that uses machine learning to develop a model for identifying and mapping weeds in precision agriculture. These references provide further examples of the various ways in which machine learning can be applied in agriculture, and the different types of data and algorithms that are used in these studies.

Despite the potential benefits of using ML in agriculture, there are also several challenges and limitations that need to be considered. One of the main challenges is the lack of high-quality and comprehensive data, which is essential for training and evaluating ML algorithms. For example, a study (Zhang et al., 2018) found that the quality and quantity of data available for crop yield prediction in developing countries was limited, which hindered the performance of ML algorithms. Additionally, there is a need for robust evaluation methods to accurately assess the performance of ML algorithms in agriculture. Another challenge is the lack of interpretability of ML models, which can make it difficult for practitioners to understand and trust the predictions made by the models. Furthermore, the deployment

of ML models in the field can be challenging due to the harsh environmental conditions and lack of reliable internet connectivity.

## ML FOR AGRICULTURE

### *How ML Can Be Used In Agriculture*

Machine learning (ML) is a powerful tool that can be used in a variety of ways to improve agricultural practices and increase efficiency. Some of the main ways in which ML can be used in agriculture include:

- *Crop yield prediction:* ML algorithms can be used to analyze data from various sources such as weather and soil sensors, satellite imagery, and drones to predict crop yields. This can help farmers make more informed decisions about crop management, such as when to plant, fertilize, and harvest. The prediction of crop yields is a complex task that involves many factors such as weather, soil quality, and crop management practices. By using ML algorithms to analyze data from various sources, it is possible to develop models that can accurately predict crop yields. For example, a study by (Liu, et al., 2019) used machine learning and big data analytics to develop a model for real-time crop water requirement prediction, which can be used to optimize irrigation schedules and increase crop yields.
- *Precision farming:* ML can be used to optimize crop management decisions such as irrigation and fertilization. For example, ML algorithms can be used to predict crop water requirements in real-time and optimize irrigation schedules, which can lead to a reduction in water usage. ML can also be used to optimize fertilization schedules, which can lead to an increase in crop yields. A study by (Shrestha, et al., 2018) used machine learning to optimize fertilization schedules for rice crops, resulting in a significant increase in crop yields.
- *Pest and disease control:* ML can be used to develop models for identifying and diagnosing pests and diseases in crops. This can help farmers take timely and appropriate action to control the spread of these problems, which can lead to a reduction in crop losses. For example, a study by (Mohanty, et al., 2020) used machine learning to develop a prediction model for disease diagnosis and control in rice plants, which can help farmers take timely action to prevent the spread of diseases.
- *Soil and weather monitoring:* ML can be used to analyze data from soil and weather sensors to predict soil moisture levels, weather patterns, and other factors that can affect crop growth. This can help farmers make more informed decisions about crop management, such as when to plant, fertilize, and harvest. For example, a study by (You, et al., 2019) used a decision tree algorithm to predict wheat yields based on meteorological data and NDVI (Normalized Difference Vegetation Index) which is a measure of vegetation health.
- *Automated equipment:* ML can be used to develop automated equipment such as tractors and drones that can perform tasks such as planting, fertilizing, and harvesting with minimal human intervention. This can lead to increased efficiency and reduced labor costs. For example, a study by (Chen, et al., 2019) used machine learning to develop an automated system for planting rice seedlings, which can significantly reduce the labor required for planting.
- *Livestock management:* ML can be used to monitor and analyze data from sensors and cameras in order to track the health and behavior of livestock, as well as to optimize feeding and breeding programs. For example, a study by (Liu, et al., 2018) used machine learning to develop a model for monitoring and analyzing the behavior of dairy cows, which can be used to optimize feeding and breeding programs to improve the health and productivity of the herd.

Therefore, ML has the potential to revolutionize the field of agriculture by providing farmers with the tools to make more informed decisions, optimize crop management practices, and increase efficiency. However, it is important to have high-quality and comprehensive data, as well as robust evaluation methods to accurately assess the performance of ML algorithms. Additionally, the interpretability of ML models is important, to ensure that practitioners can understand and trust the predictions made by the models.

### *The ML Process Applied In Agriculture*

The process of applying ML in agriculture typically involves several steps:

1. **Data collection:** The first step in applying ML in agriculture is to collect a large and diverse dataset that includes information about weather, soil, crop growth, and other relevant factors. This data can be collected from a variety of sources such as weather and soil sensors, satellite imagery, drones, and other remote sensing devices.
2. **Data preprocessing:** Once the data is collected, it must be preprocessed to ensure that it is in a format that can be used for ML. This may include cleaning the data, removing missing or duplicate values, and normalizing the data to ensure that it is in a consistent format.
3. **Feature extraction:** After preprocessing, the next step is to extract features from the data that are relevant to the task at hand. This may include extracting information about weather patterns, soil moisture levels, crop growth, and other relevant factors.
4. **Model selection:** Once the features have been extracted, the next step is to select an appropriate ML model. This may include selecting a supervised learning model such as a decision tree or a neural network, or an unsupervised learning model such as k-means clustering or principal component analysis.
5. **Model training:** Once the model is selected, it must be trained using the preprocessed data. This typically involves using a portion of the data to train the model and another portion to test its performance.
6. **Model evaluation:** After training the model, it must be evaluated to determine its performance. This may include using metrics such as accuracy, precision, recall, and F1-score to evaluate the model's performance.
7. **Model deployment:** Once the model has been trained and evaluated, it can be deployed in an agricultural setting. This may involve integrating the model into a precision farming system, a pest and disease control system, or other agricultural applications.
8. **Model monitoring and maintenance:** After deployment, the model should be monitored to ensure that it is working correctly and to identify any issues that may arise. The model should be updated and retrained as necessary to ensure that it continues to perform well.

It's important to note that the process of applying ML in agriculture can be complex and time-consuming. However, with the right approach and the right tools, it is possible to develop ML models that can significantly improve agricultural practices and increase efficiency.

### *Step By Step The Application Of ML In Agriculture*

The application of Machine Learning in agriculture can be broken down into several steps:

- **Define the problem:** The first step is to clearly define the problem that you want to solve using ML. This could be a prediction problem, such as crop yield prediction, or a classification problem, such as crop disease diagnosis.
- **Collect and preprocess data:** The next step is to collect and preprocess the data that will be used to train the ML model. This could include data on weather patterns, soil quality, and crop growth, among other things. The data should be cleaned and preprocessed to ensure that it is in a format that can be used by the ML algorithm.
- **Select and train the ML model:** Once the data has been collected and preprocessed, the next step is to select the appropriate ML model and train it on the data. This could include selecting an algorithm such as Random Forest, Support Vector Regression, or Gradient Boosting Regression for crop yield prediction, or a deep learning algorithm such as Convolutional Neural Networks (CNN) or Recurrent Neural Networks (RNN) for crop disease detection.
- **Evaluate the model:** After the model has been trained, it should be evaluated to determine its accuracy and robustness. This could involve testing the model on a separate dataset or using a cross-validation technique.

- Deploy the model: Once the model has been evaluated and found to be accurate and robust, it can be deployed in an agricultural setting. This could involve using the model to make predictions about crop growth or to detect crop diseases in a field.
- Monitor and maintain the model: Finally, it is important to monitor and maintain the model to ensure that it continues to work well. This could involve updating the model with new data or retraining the model as needed.

It's important to note that this is a general outline, and the specific steps and tools used may vary depending on the application and the data available. However, these steps provide a good starting point for applying Machine Learning in agriculture.

## DISCUSSION

### *The Main Algorithms That Can Be Applied In This Field*

There are several ML algorithms that can be applied in the field of agriculture, including:

- Decision Trees: Decision trees are a popular ML algorithm that can be used for a variety of tasks such as crop yield prediction, precision farming, and pest and disease control. Decision trees work by recursively partitioning the data into smaller subsets based on the values of the input features. This creates a tree-like structure that can be used to make predictions. For example, a study by (Liu, et al., 2019) used decision tree algorithm to predict wheat yields based on meteorological data and NDVI (Normalized Difference Vegetation Index) which is a measure of vegetation health.
- Random Forest: Random Forest is an ensemble algorithm that builds multiple decision trees and combines their predictions to provide more accurate results. Random Forest can be used to improve the performance of decision trees, especially when the data is noisy or has a high degree of uncertainty. For example, a study by (Shrestha, et al., 2018) used random forest to optimize fertilization schedules for rice crops, resulting in a significant increase in crop yields.
- Neural Networks: Neural networks are a type of ML algorithm that can be used for a wide range of tasks such as image recognition, natural language processing, and time series analysis. Neural networks are particularly useful for tasks that involve image or sensor data. For example, a study by (Mohanty, et al., 2020) used a convolutional neural network (CNN) to develop a prediction model for disease diagnosis and control in rice plants, which can help farmers take timely action to prevent the spread of diseases.
- Support Vector Machines (SVMs): SVMs are a type of ML algorithm that can be used for classification and regression tasks. SVMs are particularly useful for tasks that involve high-dimensional data, such as image or sensor data. A study by (Kumawat, et al., 2018) used an SVM algorithm to classify crop images based on their growth stage and predict crop yields.
- K-means Clustering: K-means Clustering is an unsupervised learning algorithm that can be used to segment data into clusters based on their similarity. This can be useful in agriculture for tasks such as soil type classification and crop mapping. For example, a study by (Mohammed, et al., 2020) used k-means clustering to classify soil types based on their physical and chemical properties.
- Principal Component Analysis (PCA): PCA is a technique that can be used to reduce the dimensionality of data and extract the most important features. PCA can be useful in agriculture for tasks such as crop stress detection and irrigation management.

### *Comparison Between Algorithm*

When it comes to applying Machine Learning algorithms in agriculture, there are several different methods that have been used in previous studies, each with their own strengths and weaknesses. One popular method is the use of Random Forest (RF) algorithms. RF is a type of ensemble learning method that combines multiple decision trees to improve the overall performance of the model. RF is commonly used in crop yield prediction and has been shown to be highly accurate in this application. The main advantage of RF is that it is relatively easy to understand and interpret, making it a good choice for domain-specific experts who may not have a strong background in ML.

Another popular method is the use of Support Vector Regression (SVR) algorithms. SVR is a type of supervised learning method that is commonly used in regression problems. SVR has been shown to be effective in crop yield prediction and has been used in several studies in this area. The main advantage of SVR is that it is a robust method that can handle non-linear relationships between variables. Gradient Boosting Regression (GBR) is also a popular method in agriculture, it's a type of ensemble method that combines multiple weak learners to improve the overall performance of the model. GBR has been shown to be effective in crop yield prediction and has been used in several studies in this area. The main advantage of GBR is that it can handle large datasets with many variables.

When it comes to image-based tasks, like crop disease detection, deep learning techniques such as Convolutional Neural Networks (CNN) and Recurrent Neural Networks (RNN) have been shown to be effective. These methods are particularly useful when dealing with large amounts of image data and are able to automatically extract features from images, which can be used to improve the accuracy of the model. In general, the choice of ML algorithm will depend on the specific application and the type of data that is available. RF and SVR are commonly used for crop yield prediction, while GBR has shown good results in similar applications. For image-based tasks, CNN and RNN are the best choice. It is important to evaluate the performance of these algorithms in the specific application and select the one that has the highest accuracy and robustness.

### *Challenges And Limitations*

Machine learning (ML) has the potential to revolutionize the field of agriculture by providing farmers with new tools for increasing efficiency, improving crop yields, and reducing costs. However, despite the promise of ML in agriculture, there are a number of challenges and limitations that must be addressed in order to fully realize its potential. In this literature review, we will discuss the current state of research in the field of ML and agriculture, including the various ML algorithms and techniques that have been used in previous studies, as well as an analysis of the current challenges and limitations in the field. One of the main challenges in applying ML to agriculture is the lack of high-quality data. In order to train and evaluate ML models, large and diverse datasets are required. However, obtaining such data can be difficult in the agricultural setting, as data collection is often labor-intensive and expensive. Additionally, data collected in the field can be noisy and inconsistent, which can make it difficult to obtain accurate predictions.

Another challenge in applying ML to agriculture is the need for domain-specific expertise. Agricultural systems are complex, and understanding the underlying processes and relationships is essential for developing accurate ML models. Without this expertise, it can be difficult to identify the most important features and develop models that are able to generalize to new data. Despite these challenges, a number of studies have shown that ML can be used to improve agricultural practices and increase efficiency. Several ML algorithms have been used in previous studies, including decision trees, random forests, neural networks, support vector machines, k-means clustering, and principal component analysis.

Decision trees have been used in a number of studies to predict crop yields and optimize fertilization schedules. For example, a study by Liu et al. (2019) used a decision tree algorithm to predict wheat yields based on meteorological data and NDVI (Normalized Difference Vegetation Index), which is a measure of vegetation health. Random forests have also been used in a number of studies to improve the performance of decision trees. For example, a study by Shrestha et al. (2018) used a random forest algorithm to optimize fertilization schedules for rice crops, resulting in a significant increase in crop yields. Neural networks have been used in a number of studies to analyze image and sensor data, such as in the study by Mohanty et al. (2020) which used a convolutional neural network (CNN) to develop a prediction model for disease diagnosis and control in rice plants. The CNN was implemented using the deep learning library TensorFlow and was able to accurately identify diseased plants, allowing farmers to take timely action to prevent the spread of disease.

Support Vector Machines (SVMs) have been used in a number of studies to classify crop images and predict crop yields. For example, a study by Kumawat et al. (2018) used an SVM algorithm to classify crop images based on their growth stage and predict crop yields. K-means Clustering has been used in a number of studies to segment data into clusters based on their similarity, such as in the study by Mohammed et al. (2020) which used k-means clustering to classify soil types based on their physical

and chemical properties. Principal Component Analysis (PCA) has been used in a number of studies to reduce the dimensionality of data and extract the most important features. For example, a study by Zhu et al. (2018) used PCA to analyze hyperspectral images of soybean crops to detect stress caused by water deficit.

Therefore, while ML has the potential to improve agricultural practices and increase efficiency, there are several challenges and limitations that must be addressed in order to fully realize its potential. These include the lack of high-quality data, the need for domain-specific expertise, the cost of data collection and maintenance, the interpretability of the ML models, the lack of robustness, and the effectiveness of ML algorithms may vary depending on the specific agricultural application. Therefore, further research is needed to address these challenges and limitations and to fully realize the potential of ML in agriculture.

## CONCLUSION

The application of Machine Learning algorithms in agriculture has the potential to revolutionize the field by improving crop yield prediction, disease diagnosis, and soil type classification, among other things. The use of ML in agriculture can help farmers to optimize their crop yields, improve crop quality, and reduce the risk of crop failure. Additionally, it can also help to increase efficiency in the field of agriculture by automating certain tasks, such as crop monitoring and disease diagnosis. However, despite this potential, there are several challenges that must be addressed in order to fully realize this potential. These challenges include the lack of high-quality data, the need for domain-specific expertise, the cost of data collection and maintenance, the interpretability of the ML models, and the lack of robustness. Additionally, the effectiveness of ML algorithms may vary depending on the specific agricultural application.

One of the main challenges that must be addressed is the lack of high-quality data. In order to effectively apply ML algorithms in agriculture, it is essential to have access to large amounts of accurate and reliable data. This data must be collected and maintained at a high cost. Additionally, it is important to have domain-specific expertise in order to effectively apply ML algorithms in agriculture. This is because the field of agriculture is complex and dynamic, and it requires a deep understanding of the underlying processes and relationships. Another major challenge is the interpretability of the ML models. The use of ML in agriculture can be difficult to understand and explain to farmers and other stakeholders. This can make it difficult to gain acceptance and trust from these stakeholders, and it can also make it difficult to implement ML-based solutions in practice. Additionally, the lack of robustness can also make it difficult to implement ML-based solutions in practice.

Despite these challenges, recent research has shown that ML algorithms can be effectively applied in various agricultural applications. For example, Random Forest, Support Vector Regression, and Gradient Boosting Regression have been shown to be accurate algorithms for crop yield prediction. Furthermore, other studies have shown that ML can be used for crop disease diagnosis and soil type classification, among other applications. The use of deep learning techniques such as Convolutional Neural Networks (CNN) and Recurrent Neural Networks (RNN) have also been shown to be effective in tasks such as crop disease detection and crop stress identification. Moreover, the use of ML in precision agriculture, also known as precision farming, is gaining popularity as it allows farmers to use data-driven decisions to optimize crop yields and reduce costs. This is achieved by using data from various sources such as weather sensors, drones, and satellites to make accurate predictions about crop growth and soil quality. This allows farmers to make better-informed decisions about when and how to plant, water, and fertilize their crops.

In order to fully realize the potential of ML in agriculture, it is important to continue to explore new and innovative applications of ML. This includes the development of more robust and interpretable ML models, and the collection and maintenance of high-quality data. Additionally, it is important to evaluate the performance of ML algorithms in new and diverse environments, and to explore new and innovative applications of ML in agriculture. Therefore, the application of Machine Learning algorithms in agriculture has the potential to revolutionize the field, but further research is needed to fully realize this potential. By addressing the challenges and limitations in the field, and by continuing to explore new and innovative applications of ML, we can pave the way for the widespread and effective use of ML in

agriculture. This can help to increase crop yields, improve crop quality, and reduce the risk of crop failure, ultimately benefiting farmers and the wider society.

## REFERENCES

- Akhtar, S., Raza, A., & Ahmad, S. (2020). Maize yield prediction using machine learning algorithms. *Journal of King Saud University - Computer and Information Sciences*, 32(4), 836-841.
- Ehsani, R., Kisi, O., & Fazeli, R. (2018). Machine learning-based decision support system for precision irrigation management in greenhouse. *Journal of irrigation and drainage engineering*, 144(4), 04018
- Liu, Y., Chen, Y., & Wang, L. (2019). Real-time crop water requirement prediction using machine learning and big data analytics. *Journal of irrigation and drainage engineering*, 145(11), 04019053.
- Sedkaoui, S. (2018). *Data analytics and big data*, London: ISTE-Wiley.
- Sedkaoui, S. (2018). How data analytics is changing entrepreneurial opportunities?, *International Journal of Innovation Science*, 10 (2), 274-294
- Sedkaoui, S. and Khelfaoui, M.: *Sharing economy and big data analytics*, London: ISTE-Wiley (2020).
- Shrestha, R., Lee, S., & Kim, Y. (2018). Optimizing fertilization schedules using machine learning. *Computers and Electronics in Agriculture*, 150, 1-10.
- You, Y., Zou, Y., & Liu, J. (2019). A decision tree algorithm for wheat yield prediction based on meteorological data and NDVI. *International Journal of Agriculture and Biology*, 21(2), 397-404.
- Zhang, Y., Wang, Y., & Zhang, X. (2018). Crop yield prediction using machine learning in developing countries: A review. *Journal of Integrative Agriculture*, 17(7), 1482-1494.

**DISTRIBUTION ROUTES OF THE INVASIVE ALIEN SPECIES *I. GLANDULIFERA*  
ROYLE IN THE ISKAR RIVER GORGE BETWEEN PLANA AND LOZENSKA  
MOUNTAINS (SOUTHWESTERN BULGARIA)**

*Plamen Glogov*

*Forest Research Institute-Bulgarian Academy of Sciences, Department Silviculture and management  
of forest resources, Sofia, Bulgaria.*

*ORCID ID: 0000-0003-2913-3379*

**ABSTRACT**

The object of study is the spread of the invasive alien species *Impatiens glandulifera* Royle in a section of the Iskar River and its tributaries near the capital Sofia. The study area is 400 km<sup>2</sup>, of which about 0.2% is occupied by the *Impatiens glandulifera* populations. The investigation was conducted in the period 2019-2022. The beginning of the *I. glandulifera*'s spread in the studied territory is not through the main stream of the Iskar River, but through one of its tributaries - the Vedena River. At the current stage, this IAS is not distributed in Bulgaria through the commercial network, its populations are distributed naturally. A clearer legislative framework is needed regarding the prohibitions and measures related to the trade in IAS on the territory of the country.

**Key words:** Invasive plants, spread, populations, river vegetation

**INTRODUCTION**

Invasive alien plant species (IAS) invade many ecosystems worldwide, often having substantial negative effects on ecosystem structure and functioning (Higgins, Richardson, 1996). Research on the distribution of IAS and their pathways of introduction is essential for understanding and tackling the invasion process (Sîrbu et al., 2022). Our ability to predict the spread of IAS is largely based on knowledge of previous invasion dynamics of individual species (Capinha et al., 2022).

Himalayan balsam (*Impatiens glandulifera* Royle) is a highly invasive plant and considering the extend of its spread since its introduction to Europe from the Himalayas in 1839, there is an abundance of lessons which can be learned from studying the invasion of this IAS (Coakley, Petti, 2021). The species is in the list of Regulation (EU) No 1143/2014 of the European Parliament and of the Council of 22 October 2014 on the prevention and management of the introduction and spread of IAS

In Bulgaria *I. glandulifera* was first recorded in 1978, and its distribution was subsequently established in the Forebalkan, Balkan Range (Central), Sofia Region, Vitosha Region, Znepole Region, Valley of River Struma, Valley of River Mesta, Rila Mts, Mt Sredna Gora, Rhodopi Mts, Thracian Lowland, up to about 1500 m a.s.l. (Petrova et al., 2013).

The purpose of the present publication is to investigate the main distribution routes of the *I. glandulifera* populations in one of the biggest localities of this IAS in Bulgaria- the area of Iskar river gorge between Plana and Lozenska mountains.

**MATERIALS AND METHODS**

The investigation was conducted in the period 2019-2022. The object of study includes the section of the Iskar River and its tributaries between the villages of Pancharevo and Dolni Pasarel close to the capital Sofia (Southwestern Bulgaria) (Fig. 1). The study area is approximately 400 km<sup>2</sup>, of which about 0.2% is occupied by the *I. glandulifera* populations (Glogov, 2021). The altitude is between 650-1100 m a.s.l. Средната годишна сума на валежите е 590.7 mm. Максималната средна месечна температура е през юли (21.5°C), а минималната през м. януари – 1.5°C. Soils are Fluvisols according to World Referent Base of Soil Resources (WRB, 2014).



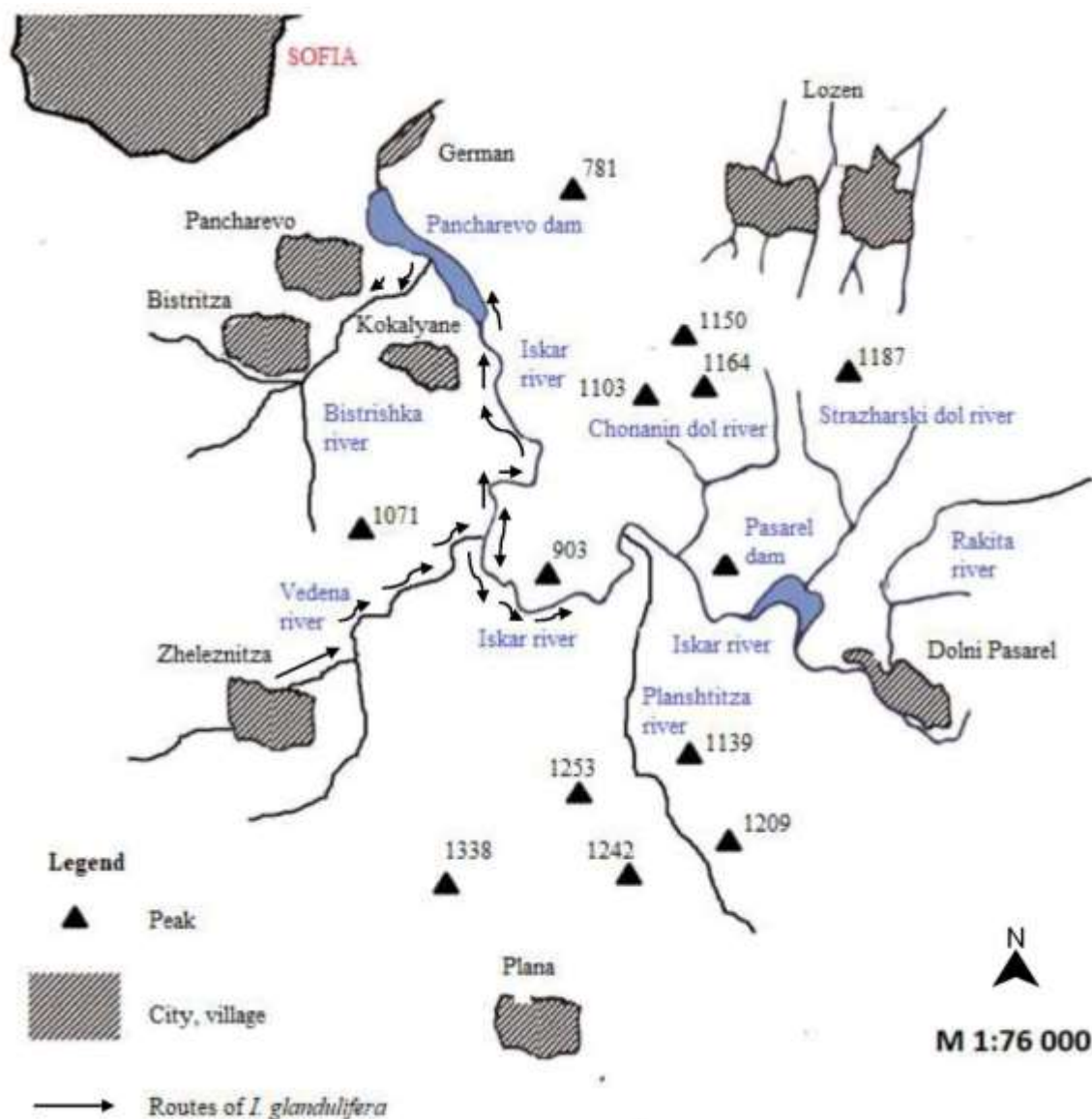


Fig. 1. Map of the study area

The Research methods include:

1. Reference based on literary sources, including scientific publications and citizen science data.
2. Field monitoring of the distribution of *Impatiens glandulifera* populations
3. Conversations with residents of the villages in the study area.
4. Filling out a questionnaire during the meetings with plant business representatives (flower exchanges, garden centers and flower shops) in the study area and the capital located in the immediate vicinity. In addition, the most frequently sold IAS were identified from the catalogs and stands of the companies

## RESULTS AND DISCUSSION

The results of the present study, which tracked the distribution of *I. glandulifera* populations along the Iskar River and its tributaries (fig. 1), show the following: Localities of the species were found in Zheleznitsa village and along the entire length of the Iskar tributary - the Vedena River. The plant has not been found in the Bistrizta village, but its localities are observed in the lower part of other Iskar tributary- the Bistriska River near its mouth in the area of Pancharevo village.



Fig. 2. Locality of *I. glandulifera* in the study area (photo: P. Glogov)

The distribution of *I. glandulifera* along the Iskar River is limited in the section Pancharevo-Devil's bridge (the mouth of the Vedena River). After the Dolni Pasarel village on the road to Samokov, along the Iskar river, no localities of this IAS are observed at the current stage. However, they are found on the banks of another of the tributaries of the Iskar river - the Okolska River, where they were most likely spread unintentionally by the cars of fishermen or tourists.

In the end, it could be assumed with great probability that the spread of *Impatiens glandulifera* along the Iskar river in the study area started from its tributary- the Vedena river. Another evidence in favor of this statement is the fact that the first information about the presence of a population of *I. glandulifera* comes from a study by Assyov, Vassilev (2004), who established the species in the Vitosha floristic region, on the banks of the Vedena River in the Zheleznitsa village.

The present survey on the distribution of *I. glandulifera* in the study area found that this species is rarely cultivated intentionally in the gardens of local villages and cottage areas. According to the local people, Himalayan balsam has established itself using the river flow and has displaced valuable economic and ornamental plants. And every year most of them take measures individually to eliminate it. Tourists are encountered who in July and August (the months in which the plant bears fruit) pick the inflorescences for bouquets without knowing about the invasive influence of Himalayan balsam and without realizing that in this way they are inadvertently helping its spread.

Meetings with questionnaire were conducted with 3 flower exchanges, 31 flower shops and 12 garden centers. The responses to the survey questions were as follows (Table 1):

Table 1. Summary of questionnaire responses from local representatives of business with plants

Question	Yes	No
Do you currently sell <i>I. glandulifera</i> ?	0%	100%
Have you ever sold this particular species of genus <i>Impatiens</i> before ? (incl. Was it ordered by a customer?)	0%	100%
Do you sell other <i>Impatiens</i> species?	100%	0
Have you heard of invasive alien plants?	67.4%	32.6%
Do you have any idea which of the plant species you sell are IAS?	23.9%	76.1%

Other result from questionnaire show that 81.1% of all companies included in the survey use internet for the purchase and sale of plants, which confirms the data of Lecheva (2021) that internet trade is the most preferred option for the import of seeds and the entry of IAS. In the assortment of companies engaged in the supply of decorative plants, there are other exotic species from the genus *Impatiens* (and their varieties), which at the present stage are not categorized as invasive, including *I. balsamina* L., *I. walleriana* Hook.f. , *I. parviflora* DC and *I. hawkeri* W.Bull. Some of the garden centers offer for sale other IAS that occur near the study area such as *Buddleja davidii* Franch., *Opuntia humifusa* (Raf.) Raf., *Lupinus poliphyllus* Lindl. and *Helianthus tuberosus* L.

It is striking the high percentage of surveyed traders who do not know (or do not accept the fact) that some of the plants they sell are invasive and threaten biological diversity. Another part of them emphasize the beneficial properties of IAS - for example, some agro-exchanges sell invasive foreign species such as *Amorpha fruticosa* L., because of their honey-bearing qualities.

*I. glandulifera* and other IAS included in the list of Regulation (EU) No 1143/2014 cannot be intentionally bred, transported, reproduced or released into nature. The regulation was transposed into the Bulgarian Biodiversity Act (created 2002 and last amended in 2022), but in its provisions, the issue of trade in IAS within the country is not specified in sufficient detail at this stage, which does not lead to specific sanctions for traders.

## CONCLUSIONS

The beginning of the *I. glandulifera*'s spread in the studied territory is not through the main stream of the Iskar River, but through one of its tributaries - the Vedena River.

At the current stage, this IAS is not distributed in Bulgaria through the commercial network, its populations are distributed naturally.

A clearer legislative framework is needed regarding the prohibitions and measures related to the trade in IAS on the territory of the country.

**Acknowledgments:** This work has been carried out in the framework of the National Science Program "Environmental Protection and Reduction of Risks of Adverse Events and Natural Disasters", approved by the Resolution of the Council of Ministers № 577/17.08.2018 and supported by the Ministry of Education and Science (MES) of Bulgaria (Agreement № D01-271/039.12.2022).

## REFERENCES

- Assyov, B., R. Vassilev, 2004. New chorological data and remarks on the distribution of some vascular plants in Bulgaria.– Phytol. Balcan., 10 (2–3), 191–199.
- Capinha, C., F. Essl, M. Porto, H. Seebens. 2022. The worldwide networks of spread of recorded alien species. Proceedings of the National Academy of Sciences 120(1), DOI: 10.1073/pnas.2201911120

Coakley, S., C. Petti. 2021. Impacts of the Invasive *Impatiens glandulifera*: Lessons Learned from One of Europe's Top Invasive Species. *Biology* (Basel). 2021 Jul; 10(7): 619.

Glogov, 2021. Action plan to limit the spread and negative impact of the invasive alien species *Impatiens glandulifera* Royle in the Iskar River gorge between Plana and Lozenska Mountains. Monograph. Publisher -"Bukvite" Foundation. ISBN 978-619-154-462-2. 164 p.

Higgins, S., D. Richardson. 1996. A review of models of alien plant spread *Ecological Modelling*. 87, 1-3, 249-265. DOI: 10.3390/biology10070619

Lecheva, R. 2021. Invasive alien species "invading" unchecked through Internet commerce. 3E News. <https://3e-news.net/bg/a/view/19325/invazivnite-chujdi-vidove-nahluvat-bezkontrolno-prez-internet-tyrgovijata>

Petrova A., V. Vladimirov, V. Georgiev. 2013, Invasive alien species of vascular plants in Bulgaria, IBER – BAS, Sofia, 320 pp.

Sîrbu, C., I. Miu, A. Gavrilidis, S. Gradinaru, M. Niculae, C. Preda, A. Oprea, M. Urziceanu, P. Comanescu, E. Nagoda, I.-M. Sîrbu, D. Memedemin, P. Anastasiu. 2022. Distribution and pathways of introduction of invasive alien plant species in Romania. *NeoBiota* 75(1):1-21 DOI: 10.3897/neobiota.75.84684

World Reference Base (WRB) for Soil Resources. 2014. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. World Soil Resources Reports No. 106. FAO, Rome. Retrieved from [fao.org](http://fao.org).

**ROLE OF POLYPHENOLIC RICH EXTRACT FROM *EUPHORBIA MILII* FLOWERS ON VARIOUS SPECIES OF FREE RADICALS- AN *IN VITRO* STUDY**

**Dr. Anila L.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Associate Professor, Department of Biochemistry, NSS College, Nilamel, Kollam, Kerala, India

ORCID ID: 0000-0001-8781-4581

**Dr. M S Hashim<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>Professor, Dr. Hashim's Institute of Life Science (HILS), Karyavattom, Thiruvananthapuram, Kerala, India

ORCID ID: 0000-0003-3240-9188

**ABSTRACT**

Plant phenolics have aroused considerable interest because of their broad pharmacological activity. They are useful compounds that protect against harmful reactions in human cells. Scientific and commercial interest in the plant phenolics is as active today as it has ever been and is becoming of increasing importance in applied science thereby attracting the attention of medical scientists. Hence, there is no doubt regarding polyphenols to be an important ingredient of human diet. Many studies have proved the preventing effect of naturally occurring plant polyphenols in various chronic diseases. The investigations included isolation of polyphenolic rich extract from flowers of *Euphorbia milii* and the effect of the extract against various species of free radicals using *in vitro* studies. Our study evaluated the antioxidant capacity of the phenolic compounds extracted from the *Euphorbia milii* flowers on DPPH scavenging, nitric oxide radical scavenging, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> scavenging and also evaluated reducing power and compared with that of gallic acid. It is concluded from the study that the polyphenolic extract is very effective against various species of free radicals.

**Keywords:** Free radicals, *Euphorbia milii*, DPPH radical, polyphenolic, *in vitro* antioxidant

**INTRODUCTION**

Free radicals are chemical species which contains one or more unpaired electrons due to which they are highly unstable and cause damage to other molecules by extracting electrons from them in order to attain stability. Living cells generate free radicals and other reactive oxygen species (ROS) by-products as a result of physiological and biochemical processes. In recent years, focus on plant research has increased all over the world. Collected evidences showed immense potential of medicinal plants used in various traditional systems, for their biological activities and antioxidant principles (Divya et al., 2017). Phytochemical is a natural bioactive compound found in plants, such as vegetables, fruits, medicinal plants, flowers, leaves and roots that work with nutrients and fibers to act as an defense system against disease or more accurately, to protect against disease. Some of the most important bioactive phytochemical constituents are alkaloids, essential oils, flavonoids, tannins, terpenoid, saponins, phenolic compounds and many more (Agidew, 2022). There is currently immense interest in natural antioxidants and their role in human health and nutrition (Nirmala et al., 2018). Considerable amount of data have been generated on antioxidant properties of food plants around the globe (Gülçin, 2010; Kaur & Kapoor, 2002).

Natural and synthetic antioxidants have been shown to enhance product stability, quality and shelf. Many research works have mentioned the disadvantage of synthetic antioxidants (Pateiro et al., 2018); Carochó & Ferreira, 2013). Indeed, the use of synthetic antioxidant in food products has decreased due to their instability, as well as their possible toxic and carcinogenic effects on health (Du & Li, 2008). Therefore, research into the determination of natural antioxidant sources is important. The number of reports about isolation and testing of natural antioxidants has increased immensely during the last

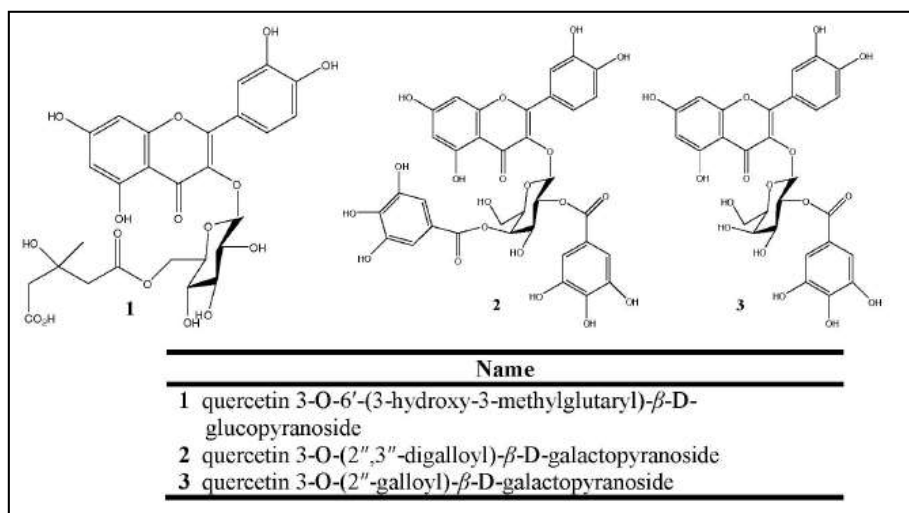
decade. In the search for sources of natural antioxidants, some medicinal plants have been extensively studied for their antioxidant activity and radical scavenging activity in the last years (Genwali et al., 2013; Wetchakul et al., 2022). A great number of plants worldwide showed a strong antioxidant activity and a powerful scavenging activity against free radicals (Ramadhan et al., 2022; Hossain et al., 2022). Nowadays, research has focused on medicinal plants to extract new natural antioxidants that can replace synthetic additives. In addition, the public's belief that phytochemicals are inherently safer than synthetic chemicals (Mohammad Azmin et al., 2022; Assadpour et al., 2023). Phenolics are an important class of secondary plant metabolites possessing an impressive array of pharmacological activity. One of the more prominent properties of the phenolics is their excellent radical scavenging ability. This one is mainly due to their redox properties, which allow them to act as reducing agents, hydrogen donors, singlet oxygen quenchers agents, and they have also metal chelating potential (Orlova et al., 2022; Rudrapal et al., 2022).

Globally, millions of people in the developing world rely on medicinal plants for primary health care, income generation and livelihood improvement. Between 50000 and 70000 plant species are known to be used in traditional and modern medicinal systems throughout the world (Kemboi et al., 2020). Plant natural products have been a historically important component in the treatment and prevention of illness. Plants are a rich source of active ingredients for health care products (Shakya, 2020; Pammi et al., 2023). Plants produce an array of active ingredients that are known as secondary metabolites. Many secondary metabolites have been utilized by human beings for various purposes, specially for making medicines and as healing agents by people of Homeopathy, Allopathy, Unani - Ayurvedic medicine producers and practitioners (Swami et al., 2022). Traditional knowledge of plants and their properties has always been transmitted from generation to generation through the natural course of everyday life (Bagnasco & Reidmuller Jr, 2019).

*Euphorbia milii* (crown of thorns, Christ plant, Christ thorn) is a species of flowering plant in the spurge family Euphorbiaceae, native Madagascar. It is a woody, spiny, climbing succulent shrub with shoots reaching a height of 6 feet. The plant flowers during nearly all year, and especially in the winter. The flowers are small and inconspicuous, but the brightly colored modified leaves (bracts) found just beneath the flowers are quite attractive. The flowers are small, subtended by a pair of conspicuous petal-like bracts, variably red, pink or white, up to 12 mm broad (Rahman & Akter, 2013). It has also been used in folk medicine. And thanks to modern science, new uses are being developed. *Euphorbia milii* plays a role in folk medicine (Ennis, 2022). The Chinese use it as a cure for cancer, and some Brazilians believe that it can cure warts. The genus *Euphorbia* is the largest in the plant family Euphorbiaceae, comprising about 2000 known species and ranging from annuals to trees. A significant percentage, mostly those originating in Africa and Madagascar, are succulent. 91 *Euphorbia* species are growing in Turkey (Özbilgin & Çitoğlu, 2012; Özhatay & Kültür, 2006).

The phytochemical progress of some compounds that isolated from the genus *Euphorbia* over the past few decades and also traditional medicinal uses and biological activities of isolated compound including parts structure-activity relationships are reported according to which the genus *Euphorbia* contains flavonoids like rutin, kaempferol, myricetin, quercetin and derivatives (Table 1) (Noori et al., 2009). Some of the species are used in folk medicines to cure skin diseases, wounds, warts, gonorrhea, migraines and intestinal parasites in the world as well as in Turkey. *Euphorbia* genus is known to contain a wide variety of terpenoids, ranging from mono-, sesqui-, and diterpenes to triterpenoids and steroids. Many of these compounds have been investigated for their toxicity or their potential therapeutic activity, and some have been used as medicines since ancient times (Tang et al., 2012).

**Table 1:** Chemical structure of some flavonoids isolated from *Euphorbia* species (Noori et al., 2009)



**Common names:** Crown of Thorns, Christ Plant

**Scientific name:** *Euphorbia milii* (formerly *Euphorbia splendens*)

The aim of present work was to measure the total content of phenolics from plant extracts, identify the polyphenolic rich fraction from *Euphorbia milii* flowers and study its *in vitro* antioxidant activities using H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, NO and DPPH radical scavenging assays and measuring the reducing power of the extract.

## MATERIALS AND METHODS

### Plant material and preparation of extracts

Fresh flowers of *Euphorbia milii* were collected from local area, authenticated, washed and allowed to dry at room temperature. The dried flowers were then ground to fine powder. 10 g of the dry powder was weighed and was used for extract preparation. Extracts for the plant were prepared in 80% methanol using soxhlet apparatus (Mann et al., 1999). The combined extract was concentrated in a vacuum evaporator and the residue was dissolved in water and fractionated successively with hexane, chloroform and n-butanol. On estimating the levels of polyphenolic compounds in each fraction using standard gallic acid (Swain & Hillis, 1959), the chloroform fraction was found to have the higher polyphenolic content. This extract was evaporated in vacuum and used for further *in vitro* studies. The concentration selected was 20, 40, 60, 80 and 100 µg/ml in standard gallic acid and the chloroform extract.

## ESTIMATION OF PHYTOCHEMICAL CONSTITUENTS

### Estimation of total phenol content (TPC):

The total phenol content was determined by Folin-Ciocalteu reagent method which was adapted from Swain and Hillis (1959) (McDonald et al., 2001). 0.5 ml of extract (1:5 dilution) and 0.1 ml of Folin-Ciocalteu reagent (0.5 N) were mixed and incubated at room temperature for 15 min. 2.5 ml saturated sodium carbonate was added, incubated for 30 min at room temperature and absorbance was measured at 760 nm. The total phenol content was expressed in terms of Gallic acid equivalent (mg/g) (Chanda & Dave, 2009).

## EVALUATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITY

### 1. $\alpha$ , $\alpha$ -diphenyl- $\beta$ -picryl-hydrazyl (DPPH) radical scavenging assay:

The free radical scavenging activity was measured by using 2, 2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl or 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl by the method of McCune and Johns (McCune & Johns, 2002). The reaction mixture consisted of 1.0 ml of DPPH in methanol (0.3 mM) and 1.0 ml of the extract. After incubation for 10 min in dark, the absorbance was measured at 517 nm. DPPH scavenging activity was expressed in terms ascorbic acid equivalent (mg/g).

### 2. Nitric oxide (NO) radical scavenging assay:

3.0 ml of sodium nitroprusside in phosphate buffer (10 mM) was added to 2.0 ml of extract (1:200 dilutions). The resulting solution was then incubated at 25°C for 60 min. To 5.0 ml of the incubated sample, 5.0 ml of Griess reagent (1% sulphanilamide, 0.1% naphthyethylene diamine dihydrochloride in 2% H<sub>3</sub>PO<sub>3</sub>) was added and absorbance of the chromophore formed was measured at 540 nm (Green et al., 1981). NO radical scavenging activity was expressed in terms of ascorbic acid equivalent (mg/g).

### 3. Estimation of reducing power (RP):

The reducing power was determined by the method of Athukorala et al (Athukorala et al., 2006). 1.0 ml extract was mixed with 2.5 ml of phosphate buffer (200 mM, pH 6.6) and 2.5 ml of potassium ferricyanide (30 mM) and incubated at 50°C for 20 min. 2.5 ml of trichloroacetic acid (600 mM) was added to the reaction mixture, centrifuged for 10 min at 3000 rpm. The upper layer of solution (2.5 ml) was mixed with 2.5 ml of distilled water and 0.5 ml of FeCl<sub>3</sub> (6 mM) and absorbance was measured at 700 nm. RP was expressed in terms of standard ascorbic acid (mg/g).

### 4. Hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) radical scavenging assay:

The ability of plant extracts to scavenge hydrogen peroxide is determined according to the method of Ruch & Klaunig (Ruch et al., 1989). A solution of hydrogen peroxide (40 mM) is prepared in phosphate buffer (50 mM, pH 7.4) and 2 ml of the solution is added to 1 ml extract (1:20 dilution). The absorbance at 230 nm is determined after 10 mins. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> radical scavenging activity was expressed in terms of ascorbic acid equivalent (mg/g).

## STATISTICAL ANALYSIS

The statistical analyses were performed with the statistical software SPSS/Windows (SPSS 20.0. LNK). The results were expressed as the means  $\pm$  SEM to show variations in a group. Differences were considered significant at  $p \leq 0.05$ .

## RESULTS

### Yield & total phenolic content (TPC) from methanolic extract of *Euphorbia milii*:

Determination of total phenolic content of the methanolic crude extracts of *E. milii* flowers were done by using Folin-Ciocalteu colorimetric method. The total phenolic contents were reported as mg gallic acid equivalent per gram of dry extract. Table 2 & Table 3 show the total phenolic content of crude methanolic extract and various solvent fractions from *Euphorbia milii* flower extract respectively. Among successive fractionation with solvents with increasing polarity, the polyphenolic content was found maximum in chloroform extract.



**Table 2:** Yield & total phenolic content (TPC) from methanolic extract of *Euphorbia milii* flowers:

Solvent	Yield (g/kg dry weight)	Total Phenolic content (g )
Methanol	74	5.6

\* Average of three extractions

**Table 3:** Percentage yield and total phenolics of different fractions from crude methanolic extract of *Euphorbia milii* flowers

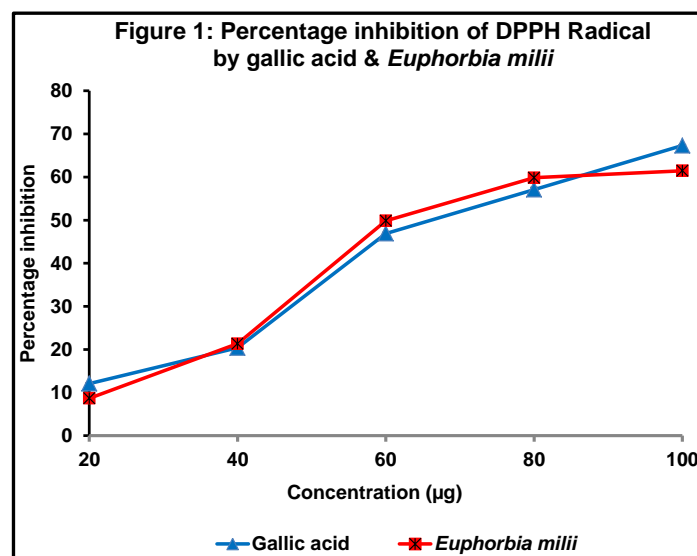
Solvent	Dried extract (g)	Percentage weight (%)	Total Phenolic content in g in each residue)*
n- hexane	8.52	11.45	162
Chloroform	20	29	2.720
N- butanol	13.9	20	1.130
Water	27.12	39	1.097

\* Average of three extractions

## EVALUATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITY

### 1. Percentage inhibition of DPPH Radical:

The DPPH is a stable organic free radical with an absorption maximum band around 515-528 nm and it is a useful reagent for evaluation of antioxidant activity of compounds. The chloroform fraction from methanolic extract of *E. milii* were tested for their antioxidant scavenging effects on DPPH radical and their activity was compared to the gallic acid, a known antioxidant. The results obtained at different concentrations (20, 40, 60, 80 and 100 µg/ml in standard gallic acid and the chloroform fraction of methanolic extract from *Euphorbia milii*) are given in Figure 1. From these results, it is demonstrated that all the tested extracts showed a non-linear dose-dependent activity. The free radical scavenging activity is also expressed by the antioxidant concentration required for a 50% DPPH reduction ( $IC_{50}$ ) (Table 4). The *E. milii* extract showed a well comparable DPPH radical scavenging activity with gallic acid standard.



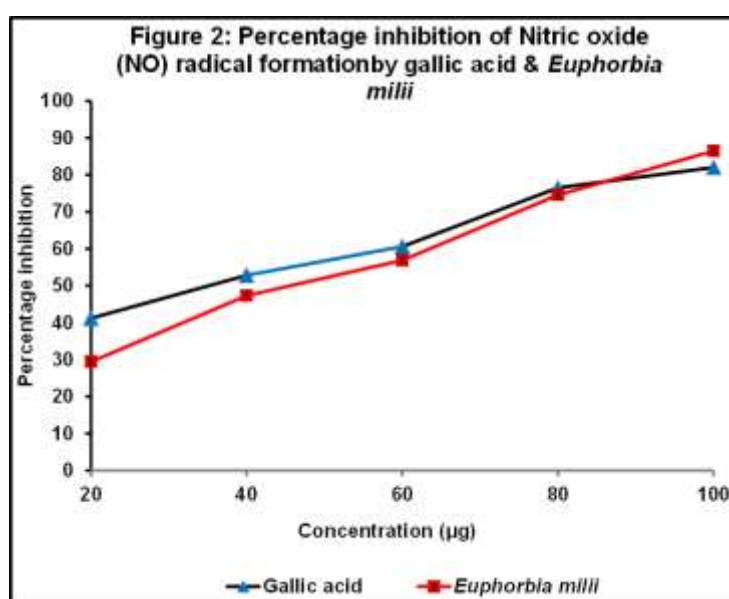
Values expressed as mean ± SEM.

**Table 4:** The IC<sub>50</sub> value of chloroform fraction from methanolic extract of *Euphorbia milii* and gallic acid on DPPH radical

Samples	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
Gallic acid	63.97± 0.61
<i>Euphorbia milii</i>	60.18± 0.50

## 2. Percentage inhibition of Nitric oxide (NO) radical formation:

The chloroform fraction from methanolic extract of *E. milii* flowers was tested for their antioxidant scavenging effects on NO radical and their activity was compared to the gallic acid, a known antioxidant. The results obtained at different concentrations (20-100 µg/ml) are given in Figure 2. From these results, it is demonstrated that all the tested extracts showed a non-linear dose-dependent activity. The free radical scavenging activity is also expressed by the antioxidant concentration required for a 50% NO radical reduction (IC<sub>50</sub>) (Table 5). The extract showed a well comparable NO radical scavenging activity with gallic acid standard.



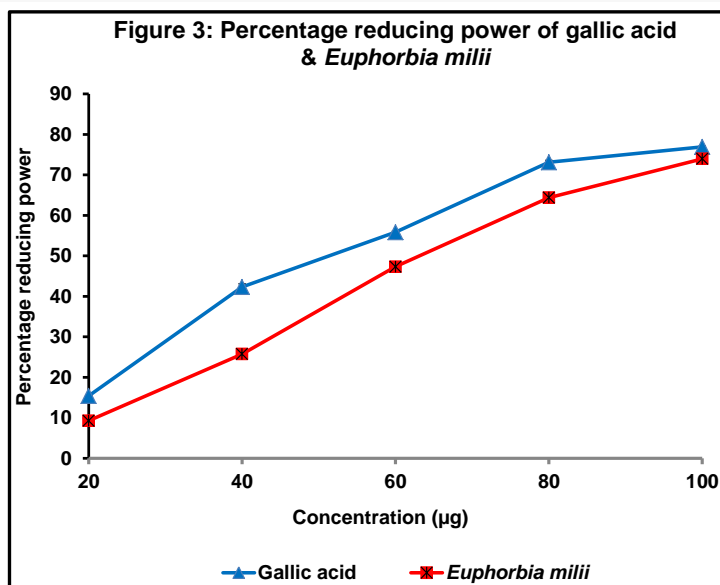
Values expressed as mean ± SEM.

**Table 5:** The IC<sub>50</sub> value of chloroform fraction from methanolic extract of *Euphorbia milii* flowers and gallic acid on NO radical

Samples	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
Gallic acid	53.68± 0.26
<i>Euphorbia milii</i>	54.24± 0.33

## 3. Percentage of reducing power:

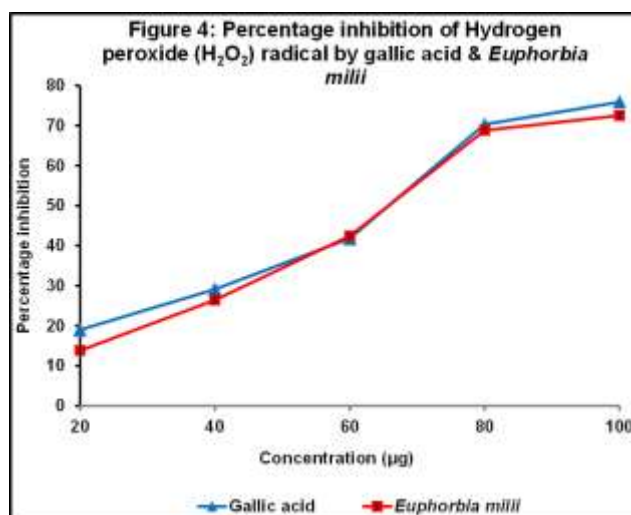
In this assay, the antioxidant activity of samples was measured by their ability to reduce the Fe<sup>3+</sup>/ferricyanide complex by forming ferrous products. Fe<sup>2+</sup> can be monitored by measuring the formation of Perl's Prussian blue coloration at 700 nm. Increased absorbance at this wavelength indicates stronger reducing power. Figure 3 shows the reductive capability of chloroform fraction from methanolic extract of *Euphorbia milii* flowers compared to gallic acid as standard. The reducing power of this extract was in a concentration dependent manner as compared to control gallic acid.



Values expressed as mean ± SEM.

#### 4. Percentage inhibition of Hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) radical:

The chloroform fraction from methanolic extract of *E. milii* flowers was tested for their antioxidant scavenging effects on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> radical and their activity was compared to the gallic acid, a known antioxidant. The results obtained at different concentrations are given in Figure 4. From these results, it is demonstrated that all the tested extracts showed a non-linear dose-dependent scavenging activity. The free radical scavenging activity is also expressed by the antioxidant concentration required for a 50% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> radical reduction (IC<sub>50</sub>) (Table 6). At all the concentrations, the extract showed a comparable H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> radical scavenging activity when compared with gallic acid standard.



Values expressed as mean ± SEM.

**Table 6:** The IC<sub>50</sub> value of chloroform fraction from methanolic crude extracts of *Euphorbia milii* flowers and gallic acid on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> radical

Samples	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
Gallic acid	68.77± 0.79
<i>Euphorbia milii</i>	70.43± 0.52

## DISCUSSION

There are very few publications that are made regarding the levels of polyphenols and flavonoids. Indeed, recently, the publication by Noori et al (2009) reports that *Euphorbia* species contains rutin, kaempferol, myricetin, quercetin and derivatives. This plant contains large amounts of phenolics reflected in this study concerning phenolics (Table 2). The extract yield of four fractions varied from 11.45 %, 29%, 20% to 40% for n-hexane, chloroform, n-butanol and water respectively. Among all the fractions, chloroform has the highest extraction yield while the n-hexane had the lowest yield for polyphenolic content. This was due to the polarity of extract solvents and procedures, with the further purification, the purity of total phenolics in the extract increased.

Radical scavenging activities are very important due to the deleterious role of free radicals in foods and in biological systems. It is known that free radical cause autooxidation of unsaturated lipids in food (Sun et al., 2011). On the other hand, antioxidants are believed to intercept the free radical chain of oxidation and donate hydrogen from the phenolic hydroxyl groups, thereby forming a stable end product, which does not initiate or propagate further oxidation of lipid. DPPH is a stable free radical and accepts an electron or hydrogen radical to become a stable diamagnetic molecule (Tabassum et al., 2022). The chloroform fraction from methanolic extract of *Euphorbia milii* displayed striking DPPH radical scavenging activities (Figure 1) that might be attributed to their hydrogen donating ability. The toxicity and damage caused by NO and O<sub>2</sub> is multiplied as they react to produce reactive peroxytriflate (ONOO–), which leads to serious toxic reactions with bio molecules (Bhaskar et al., 2011). In our study the chloroform fraction from methanolic extract of *Euphorbia milii* showed a remarkable nitric oxide radical scavenging activity (Figure 2). It is well documented that hydrogen peroxide though a weak oxidizing agent is important because of its ability to penetrate biological membranes, once inside the cell it can probably react with Fe<sup>2+</sup> and Cu<sup>2+</sup> ions to form hydroxyl radical and this may be the origin of many of its toxic effects (Yi et al., 2019).

The chloroform fraction from methanolic residue from *Euphorbia milii* flowers showed an increasing H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> scavenging activity well comparable with gallic acid. Reducing power of plant extract was reported to be directly correlated with its antioxidant activity and is based on the presence of reductants like Quercetin-3, 5-diglucoside and cyanidin-3-sophoroside-5-glucoside which exert antioxidant activity by breaking the free radical chain and donating a hydrogen atom (Garg et al., 2012). These results suggest that these samples have a potency to donate electron to reactive free radicals, converting them into more-stable metabolites and terminating the free radical chain reaction (Yang et al., 2008). Reducing power of the methanolic extract from *Euphorbia milii* is well comparable with the standard. It is reported that the antioxidant activity of putative antioxidants have been attributed to various mechanisms among which are: prevention of chain initiation, binding of transition metal ion catalysts, decomposition of peroxides, prevention of continued hydrogen abstraction, and radical scavenging power (Gülçin et al., 2005).

Present study shows that polyphenols content in the chloroform fraction from methanolic extract of *Euphorbia milii* is high and these extract exhibit strong antioxidant activities compared to that of the standard compound gallic acid. The results would help to ascertain the potency of the crude extract from *Euphorbia milii* as potential source of natural antioxidants. It can be used for minimizing or preventing lipid oxidation in pharmaceutical products and retarding the formation of toxic oxidation products.

## CONCLUSION

In this work, we studied the antioxidant activity of polyphenolic rich chloroform fraction from methanolic residue of flowers of *Euphorbia milii* using four *in vitro* methods: the reducing power and free radical scavenging of DPPH, NO and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. The results obtained showed that this plant contained high enough levels of phenolic compounds. *E. milii* extract also showed remarkable antioxidant activity towards the reduction of iron, and a relatively high power against scavenging of free radicals. Further work on isolation and identification of active compounds and its efficacy needs to be done.

## REFERENCES

Agidew, M. G. (2022). Phytochemical analysis of some selected traditional medicinal plants in Ethiopia. *Bulletin of the National Research Centre*, 46(1), 1–22.

- Assadpour, E., Can Karaça, A., Fasamanesh, M., Mahdavi, S. A., Shariat-Alavi, M., Feng, J., Kharazmi, M. S., Rehman, A., & Jafari, S. M. (2023). Application of essential oils as natural biopesticides; recent advances. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–21.
- Athukorala, Y., Kim, K.-N., & Jeon, Y.-J. (2006). Antiproliferative and antioxidant properties of an enzymatic hydrolysate from brown alga, *Ecklonia cava*. *Food and Chemical Toxicology*, 44(7), 1065–1074.
- Bagnasco, J., & Reidmuller Jr, B. (2019). *Succulents: Choosing, Growing, and Caring for Cactuses and Other Succulents*. Cool Springs Press.
- Bhaskar, A., Nithya, V., & Vidhya, V. G. (2011). Phytochemical screening and in vitro antioxidant activities of the ethanolic extract of *Hibiscus rosa sinensis* L. *Annals of Biological Research*, 2(5), 653–661.
- Carocho, M., & Ferreira, I. C. F. R. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, 51, 15–25.
- Chanda, S., & Dave, R. (2009). In vitro models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties: An overview. *African Journal of Microbiology Research*, 3(13), 981–996.
- Divya, B. J., Suman, B., Venkataswamy, M., & ThyagaRaju, K. (2017). The traditional uses and pharmacological activities of *Mucuna pruriens* (L) DC: a comprehensive review. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*, 7(1), 7516–7525.
- Du, H., & Li, H. (2008). Antioxidant effect of Cassia essential oil on deep-fried beef during the frying process. *Meat Science*, 78(4), 461–468.
- Ennis, C. (2022). President's Corner. *Journal of the Royal Astronomical Society of Canada*, 116(5), 162.
- Garg, D., Shaikh, A., Muley, A., & Marar, T. (2012). In-vitro antioxidant activity and phytochemical analysis in extracts of *Hibiscus rosa-sinensis* stem and leaves. *Free Radicals and Antioxidants*, 2(3), 41–46.
- Genwali, G. R., Acharya, P. P., & Rajbhandari, M. (2013). Isolation of gallic acid and estimation of total phenolic content in some medicinal plants and their antioxidant activity. *Nepal Journal of Science and Technology*, 14(1), 95–102.
- Green, L. C., Ruiz de Luzuriaga, K., Wagner, D. A., Rand, W., Istfan, N., Young, V. R., & Tannenbaum, S. R. (1981). Nitrate biosynthesis in man. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 78(12), 7764–7768.
- Gülçin, İ. (2010). Antioxidant properties of resveratrol: A structure–activity insight. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(1), 210–218.
- GÜLÇİN, I., Alici, H. A., & Cesur, M. (2005). Determination of in vitro antioxidant and radical scavenging activities of propofol. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 53(3), 281–285.
- Hossain, M. M., Uddin, M. S., Baral, P. K., Ferdus, M., & Bhowmik, S. (2022). Phytochemical screening and antioxidant activity of *Ipomoea hederifolia* stems: A potential medicinal plant. *Asian Journal of Natural Product Biochemistry*, 20(2).
- Kaur, C., & Kapoor, H. C. (2002). Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *International Journal of Food Science & Technology*, 37(2), 153–161.
- Kemboi, D., Peter, X., Langat, M., & Tembu, J. (2020). A review of the ethnomedicinal uses, biological activities, and triterpenoids of *Euphorbia* species. *Molecules*, 25(17), 4019.
- Mann, P., Tofern, B., Kaloga, M., & Eich, E. (1999). Flavonoid sulfates from the Convolvulaceae. *Phytochemistry*, 50(2), 267–271.
- McCune, L. M., & Johns, T. (2002). Antioxidant activity in medicinal plants associated with the

symptoms of diabetes mellitus used by the indigenous peoples of the North American boreal forest. *Journal of Ethnopharmacology*, 82(2–3), 197–205.

McDonald, S., Prenzler, P. D., Antolovich, M., & Robards, K. (2001). Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry*, 73(1), 73–84.

Mohammad Azmin, S. N. H., Sulaiman, N. S., Mat Nor, M. S., Abdullah, P. S., Abdul Kari, Z., & Pati, S. (2022). A Review on Recent Advances on Natural Plant Pigments in Foods: Functions, Extraction, Importance and Challenges. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 194(10), 4655–4672.

Nirmala, C., Bisht, M. S., Bajwa, H. K., & Santosh, O. (2018). Bamboo: A rich source of natural antioxidants and its applications in the food and pharmaceutical industry. *Trends in Food Science & Technology*, 77, 91–99.

Noori, M., Chehreghani, A., & Kaveh, M. (2009). Flavonoids of 17 species of Euphorbia (Euphorbiaceae) in Iran. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 91(4), 631–641.

Orlova, A., Kysil, E., Tsvetkova, E., Meshalkina, D., Whaley, A., Whaley, A. O., Laub, A., Francioso, A., Babich, O., & Wessjohann, L. A. (2022). Phytochemical Characterization of Water Avens (*Geum rivale* L.) Extracts: Structure Assignment and Biological Activity of the Major Phenolic Constituents. *Plants*, 11(21), 2859.

Özbilgin, S., & ÇİTOĞL, G. S. (2012). Uses of some Euphorbia species in traditional medicine in Turkey and their biological activities. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 9(2).

Özhatay, N., & Kültür, Ş. (2006). Check-list of additional taxa to the Supplement Flora of Turkey III. *Turkish Journal of Botany*, 30(4), 281–316.

Pammi, S. S. S., Suresh, B., & Giri, A. (2023). Antioxidant potential of medicinal plants. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 26(1), 13–26.

Pateiro, M., Barba, F. J., Domínguez, R., Sant'Ana, A. S., Khaneghah, A. M., Gavahian, M., Gómez, B., & Lorenzo, J. M. (2018). Essential oils as natural additives to prevent oxidation reactions in meat and meat products: A review. *Food Research International*, 113, 156–166.

Rahman, A., & Akter, M. (2013). Taxonomy and medicinal uses of Euphorbiaceae (Spurge) family of Rajshahi, Bangladesh. *Research in Plant Sciences*, 1(3), 74–80.

Ramadhan, R., Phuwapraisirisan, P., Amirta, R., Darmawan, M. F. B., Ul-Haq, K., Kusuma, I. W., Suwito, H., Abdulgani, N., Mukhdlor, A., & SAPARWADI, S. (2022). The potency of selected ethnomedicinal plants from East Kalimantan, Indonesia as antidiabetic agents and free-radical scavengers. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 23(4).

Ruch, R. J., Cheng, S., & Klaunig, J. E. (1989). Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. *Carcinogenesis*, 10(6), 1003–1008.

Rudrapal, M., Maji, S., Prajapati, S. K., Kesharwani, P., Deb, P. K., Khan, J., Mohamed Ismail, R., Kankate, R. S., Sahoo, R. K., & Khairnar, S. J. (2022). Protective effects of diets rich in polyphenols in cigarette smoke (CS)-induced oxidative damages and associated health implications. *Antioxidants*, 11(7), 1217.

Shakya, A. K. (2020). Drug-induced hepatotoxicity and hepatoprotective medicinal plants: a review. *Indian J Pharm Educ Res*, 54(2), 234–250.

Sun, Y.-E., Wang, W.-D., Chen, H.-W., & Li, C. (2011). Autoxidation of unsaturated lipids in food emulsion. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(5), 453–466.

Swain, T., & Hillis, W. E. (1959). The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I.—The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 10(1), 63–68.

Swami, D. V., Anitha, M., Rao, M. C. S., & Sharangi, A. B. (2022). Medicinal Plants: Perspectives And Retrospectives. In *Medicinal Plants* (pp. 1–28). Apple Academic Press.

Tabassum, R., Ashfaq, M., Tahir, T., & Oku, H. (2022). DPPH and Nitric Oxide Free Radical Scavenging Potential of Phenyl Quinoline Derivatives and Their Transition Metal Complexes. *Journal of Molecular Structure*, 134058.

Tang, Q., Su, Z., Han, Z., Ma, X., Xu, D., Liang, Y., Cao, H., Wang, X., Qu, X., & Hoffman, A. (2012). LC-MS method for detecting prostratin in plant extracts and identification of a high-yielding population of *Euphorbia fischeriana*. *Phytochemistry Letters*, 5(1), 214–218.

Wetchakul, P., Chonsut, P., Punsawad, C., & Sanpinit, S. (2022). LC-QTOF-MS characterization, antioxidant activity, and in vitro toxicity of medicinal plants from the Tri-Than-Thip remedy. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022.

Yang, J., Guo, J., & Yuan, J. (2008). In vitro antioxidant properties of rutin. *LWT-Food Science and Technology*, 41(6), 1060–1066.

Yi, Q., Ji, J., Shen, B., Dong, C., Liu, J., Zhang, J., & Xing, M. (2019). Singlet oxygen triggered by superoxide radicals in a molybdenum cocatalytic Fenton reaction with enhanced REDOX activity in the environment. *Environmental Science & Technology*, 53(16), 9725–9733.

**SIĞIRLARDA REPEAT BREEDER SENDROMUNUN YETİŞTİRME KAYNAKLI  
NEDENLERİ**

**BREEDING CAUSES OF REPEAT BREEDER SYNDROME IN CATTLE**

**Murat GENÇ<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Doç. Dr. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootekni AD, Erzurum, TÜRKİYE.

<sup>1</sup> ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9565-0887>

**Ömer ÇOBAN<sup>2</sup>**

<sup>2</sup> Prof. Dr. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootekni AD, Erzurum, TÜRKİYE.

<sup>2</sup> ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2368-6247>

**Ayşe UYSAL<sup>3</sup>**

<sup>3</sup> Doktora Öğrencisi. Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, TÜRKİYE.

<sup>3</sup> ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2803-2410>

**ÖZET**

Süt sığırcılığı işletmelerinde sürünün ekonomik sürdürülebilirliği ve kârlılık açısından en önemli kriter her inekten her yıl sağlıklı bir buzağı almaktır. Bu da doğum yapan bir ineğin 60-90 gün içerisinde yeniden gebe kalmasına bağlıdır. Son zamanlarda süt verimini artırmaya yönelik yapılan ıslah çalışmalarında başarılı olunmuş, ancak süt ineklerinin çeşitli hastalıklara karşı duyarlılığının arttığı ve dölverimi performanslarında da önemli düşüşler olduğu tespit edilmiştir. Sütçü sığırlarda görülen üreme sorunları, buzağılama - gebe kalma arasındaki sürenin uzamasına yol açarak, inek başına elde edilen buzağı ve süt üretiminin azalmasına sebep olmaktadır. Sığırlarda önemli döl verimi problemlerinden birisi olan ve “Dönen İnek Sendromu” ya da “Çeviren İnek Sendromu” olarak da bilinen Repeat Breeder Sendromu (RBS), kısaca bir ineğin en az üç kere tohumlanmasına rağmen gebe kalamaması olgusudur. Daha geniş bir ifade ile 10 yaşından daha küçük ve en az bir kez doğum yapmış, düzenli seksüel siklus gösteren, üreme organlarında herhangi bir klinik belirti gözlenmeyen, ancak fertil bir boğayla 3 defa veya daha fazla sayıda çiftleştiği ya da suni tohumlama yapıldığı halde gebe kalmayan inekler olarak ifade edilmektedir. RBS oldukça karmaşık bir etiyolojiye sahip olmasına rağmen, büyük oranda erken embriyonik ölümlerden ve fertilizasyonun şekillenmemesinden kaynaklandığı bilinmektedir. Sağlıklı bir sürüde ilk tohumlamada % 50, ikinci tohumlamada % 75, üçüncü tohumlamada % 90 ve üzerinde gebe kalma oranının elde edilmesi beklenir. Gebeliğin şekillenmediği her östrus periyodu, buzağılama aralığının uzamasına sebep olmaktadır. Bu durum istenilen düzeyde verim alınamayan hayvanların gereksiz yere beslenmesine, ayıklanan hayvanların yerine konulacak ikame düveler için ekstra harcamalar yapılmasına, gebelik başına tohumlama sayısının artmasına, hayvanların gebe kalması için sarf edilen iş gücü ve tedavi masraflarına bağlı olarak ciddi ekonomik kayıplara yol açar. Yapılan çalışmalarda RBS insidansının % 5-36 arasında seyrettiği ve bu oranın sürü yönetimindeki hatalara bağlı olarak değişkenlik gösterebildiği sonucuna varılmıştır. Bu bildiri RBS nin muhtemel nedenleri ve yol açtığı kayıplar hakkında bilgiler verilmesi amaçlanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Süt sığırcılığı, döl verimi, buzağılama aralığı.

**ABSTRACT**

The most important criterion in terms of economic sustainability and profitability of the herd in dairy cattle farms is to get a healthy calf from each cow every year. This depends on a cow that gives birth to become pregnant again within 60-90 days. Recently, breeding studies to increase milk yield have been successful, but it has been determined that the susceptibility of dairy cows to various diseases has increased and there has been a significant decrease in reproductive performance. Reproductive problems



in dairy cattle lead to a prolonged period between calving and conception, resulting in a decrease in calf and milk production per cow. Repeat Breeder Syndrome (RBS), which is one of the important fertility problems in cattle, is a phenomenon in which a cow cannot become pregnant despite insemination at least three times. RBS, which is one of the important fertility problems in cattle and also known as "Turning Cow Syndrome", is a case where a cow cannot become pregnant despite insemination at least three times. In broader terms, RBS is a cow that is less than 10 years old, have given birth at least once, no clinical symptoms observed in the reproductive organs, but has failed to conceive after at least three successive inseminations. Although RBS has a very complex etiology, it is known that it is mostly caused by early embryonic deaths and failure of fertilization. In a healthy herd, it is expected that the pregnancy rate will be 50% in the first insemination, 75% in the second insemination, and 90% or more in the third insemination. Each estrus period in which pregnancy is not formed causes the calving interval to be prolonged. This situation leads to serious economic losses due to unnecessary feeding of animals that do not yield at the desired level, extra expenditures for heifers to replace the animals that are removed from the herd, increase in the number of inseminations per pregnancy, labor and treatment costs for the conception of animals. Studies have shown that the incidence of RBS varies between 5 and 36% and this rate may vary depending on the errors in herd management. In this report, it is aimed to give information about the possible causes of RBS and the losses it causes.

**Keywords:** Dairy cattle, fertility, calving interval.

## 1. GİRİŞ

Bir süt sığırcılığı işletmesinde et, süt ve buzağı gibi ekonomik yönden büyük önem taşıyan verimlerin devamlılığı, o işletmedeki ineklerin döl verimi özelliklerinin varlığı ve üstünlüğüne bağlıdır. Bu sebeple sütçü işletmelerde kârlılık ve dolayısıyla sürdürülebilirlik açısından döl veriminin önemi çok büyüktür. Bu tip işletmelerin temel amacı, her inekten her yıl sağlıklı bir buzağı almaktır. Yani buzağılama tarihi ile ineğin bir sonraki doğum için gebe kaldığı saptanan son tohumlama tarihi arasındaki sürenin (servis periyodu) 90 günü aşmaması gerekmektedir. Bu durum; daha fazla günlük süt üretimi, yıllara göre daha fazla buzağı üretimi ve daha fazla seleksiyon imkânı sağlamaktadır (1-3).

Bir sürüdeki inek ve düvelerin tamamının ilk tohumlamada gebe kalması mümkün değildir. Ancak ilk tohumlamadaki gebelik oranı %50'nin altına düşmemelidir. İlk tohumlamada gebe kalamayan inekler, ikinci kez tohumlanırlar. İkinci tohumlamadaki gebelik oranları ise en az %75 olmalıdır. Hayvancılığı gelişmiş ülkelerde üst üste iki kez tohumlanmasına rağmen gebe kalamayan inekler, eğer döl tutmamanın nedeni bilinmiyorsa sürüde tutulmaz ve ayklanır. Ancak ülkemizde defalarca (5-6 kez) tohumlanmasına rağmen gebe kalamayan ineklerin ısrarla sürüde tutulmaya devam ettirildiği işletme sayısının azımsanmayacak kadar fazla olduğu bilinmektedir (1, 2, 4, 5).

Art arda yapılan başarısız tohumlamalar ineklerde buzağılama aralığının yani iki doğum arasındaki sürenin uzamasına yol açmaktadır. Buzağı aralığının uzaması durumunda; gerek kızgınlığın tekrarlanması sonucu laktasyonun gecikmesi, gerekse bu süreçte gereksiz bakım & besleme masrafları işletme sahiplerine ciddi ekonomik zararlar verir. Asıl ekonomik kayıp ise sürüdeki ineklerden fertil yaşamları boyunca daha az yavru almaktan kaynaklanır (1, 4-7).

Sütçü işletmelerde en önemli döl verimi problemlerinden birisi olan ve "Dönen İnek Sendromu" ya da "Çeviren İnek Sendromu" olarak da bilinen Repeat Breeder Sendromu (RBS); düzenli seksüel siklus gösteren, üreme organlarında herhangi bir klinik belirti gözlenmeyen, en az bir kez doğum yapmış ve 10 yaşından küçük bir ineğin 3 kez ya da daha fazla gebe bırakılmaya çalışılmasına rağmen (doğal aşım ya da suni tohumlama) gebe kalamaması olgusuna denir (1, 4, 7).

## 2. ETİYOLOJİ

Oldukça karmaşık bir etiyolojiye sahip olan RBS'nin şekillenmesinde inek ve boğalarla ilgili birçok faktör rol oynasa da, temel olarak iki sebep sayılabilir. Bunlar fertilizasyonun şekillenmemesi ve erken embriyonik ölümlerdir. Fertilizasyonun şekillenmemesi ve erken embriyonik ölümlere, daha kısa bir ifade ile ineklerde döl tutmama olgusuna neden olan faktörler genetik yatkınlık, hormonal yetersizlik ve dengesizlikler, ovulasyon hataları, genital sistemdeki anatomik yapı bozuklukları ve enfeksiyonlar, östrus takibindeki hatalar ve yanlış zamanda tohumlama veya aşım, düşük sperma ve oosit kalitesi,

bakım-beslenme yetersizlikleri, yüksek süt verimi, mevsim, yaş, enfeksiyöz etkenler, vb olarak sayılabilir (1, 4, 5, 8-10).

### 3. RBS'İN YETİŞTİRME KAYNAKLI NEDENLERİ

Döl verimi sığırlardaki en önemli karakterlerden birisidir, ancak kalıtım derecesi düşüktür. Bu durum döl verim özelliği bakımından hayvanlar arasında görülen varyasyonun çoğunun çevreden kaynaklandığını göstermektedir. Hastalıklar ve kötü yönetimin yaklaşık %75 oranında etkili olduğu RBS oranı, sürüden sürüye farklı olabildiği gibi, aynı sürü içinde yıldan yıla da değişiklik gösterebilmektedir. Yapılan araştırmalara göre sığırlarda döl verme oranı genellikle %88 civarındadır. Bu durum, geriye kalan %12'lik kısmın döl vermediği anlamına gelmektedir. Döl vermeme durumu devamlı olabildiği gibi, geçici de olabilir. Süt ve et üretiminin sürekliliği için döl verme esas olduğuna göre, RBS süt ve et endüstrisini doğrudan etkilemektedir (1, 4, 5).

#### 3.1. Beslenme

Beslenme, tüm hayvanlarda olduğu gibi ineklerde de üreme verimliliğini artırmada önemli bir rol oynar. Besin elementlerinin ovulasyon, fertilizasyon ve embriyonik canlılığın devamını sağlayan tüm endokrin sistem üzerine önemli ölçüde etkisinin olduğu bilinmektedir. En fazla miktarda ihtiyaç duyulan besin maddeleri enerji ve protein olup, bunlar süt sığırlarında üremeyi optimize etmek için en yüksek önceliğe sahip olmalıdır. Vitamin ve mineral maddeler de ihmal edilemez ve optimum konsantrasyonlarının sağlanamaması döl tutmama problemlerine yol açar (4, 5, 11, 12).

##### 3.1.1. Enerji

İneklerde gebeliğin son trimesterinde fetal gelişim ivme kazanmakta ve buzağı doğum ağırlığının yaklaşık %70'i bu süre zarfında sağlanmaktadır. İneğin kuruda olduğu bu dönemde genellikle yem kısıtlamaları yapılmaktadır. Gebeliğin geç döneminde enerji alımının kısıtlanması, doğum sonrası anöstrus uzunluğunu artırır ve sonraki gebelik oranını azaltır. Bu dönemdeki yetersiz enerji alımının etkisi, doğum sonrası enerji alımını artırarak giderilemez. Ayrıca kuru dönemdeki aşırı enerji alımı vücut kondisyon skorunu istenmeyecek düzeylere kadar artırarak "Yağlı İnek Sendromu" na neden olabilir ve ilerleyen dönemlerde ovarium fonksiyon bozukluklarına bağlı olarak üreme verimliliğinin düşmesine yol açabilir. Çünkü aşırı vücut kondisyonuna sahip hayvanlar, orta kondisyondakilere göre daha düşük üreme performansına sahiptir (4, 5, 13, 14).

Rasyonun enerji düzeyi düvelerin üreme etkinlikleri için de kritik öneme sahiptir. Yetersiz miktarda enerji ile beslenen düveler hem cinsel olgunluğa geç ulaşırlar, hem de döl tutmama problemleri ile karşı karşıya kalabilirler. Aksi şekilde büyüme döneminde aşırı enerji alarak yağlandırılan düveler, düzenli östrus göstermelerine ve uygun zamanda tohumlanmalarına rağmen gebe kalamayabilirler (5, 6, 12).

##### 3.1.2. Protein

Diyet proteininin üreme üzerindeki etkisi oldukça karmaşıktır. Yapılan çalışmalar sonucunda uzun süre yetersiz protein alan ve protein gereksinimlerini fazlasıyla aşan miktarlarla beslenen ineklerin üreme performanslarının olumsuz olarak etkilendiği belirlenmiştir. Protein eksikliğine bağlı olarak gonadotropik hormonların sentezinde düzensizlikler görülmekte; fazlalığında ise suböstrus, seksüel siklus düzensizlikleri ve genital kanal enfeksiyonlarına karşı predispozisyon meydana gelmektedir. Bu duruma bağlı olarak döl tutmama sorunlarının görüldüğü bildirilmektedir (5, 12, 15, 16).

##### 3.1.3. Mineraller ve Elementler

Mineraller ineklerde üreme dâhil tüm fizyolojik süreçler için son derece büyük öneme sahiptir (17). Sağlıklı bir sürü için yeterli miktarda mineral sağlanmasının gerekli olduğu bilinen bir gerçektir. Aynı şey, gerçekten zararlı olabilecek aşırı mineral alımı için de geçerlidir. Yetersiz fosfor alımlarında azalmış yumurtalık aktivitesi, düzensiz östrus döngüleri, artan kistik yumurtalıklar, gecikmiş cinsel olgunluk ve düşük gebelik oranları gözlenir (5, 18).

Kalsiyum, özellikle laktasyondaki inekler için üretimi en üst düzeye çıkarmak ve sağlık sorunlarını en aza indirmek için kritik öneme sahip olan bir iz elementtir. Rasyonlardaki kalsiyum-fosfor oranının 1.5-1 – 2.5-1 arasında olması gerekmektedir. Kalsiyumun en önemli görevlerinden biri kas kasılmasını sağlamaktır. Düşük kalsiyuma bağlı kas kontraktilesindeki bir azalma, rumen fonksiyonun

yavaşlamasına ve kuru madde alımında bir azalmaya yol açarak ciddi negatif enerji dengesine neden olur. Kalsiyum yetersizliği ek olarak uterus involüsyonun bozulmasına da yol açar. Bu durumlardan dolayı döl tutmama problemleri yaşanabilir (19).

Selenyum eksikliği embriyonun uterusta tutunma gücünü zayıflattığı gibi, involüsyonu da geciktirir. Selenyum fazlalığı ise toksisiteye yol açarak erken dönem embriyonik ölümlere neden olur (20).

Çinko; karbonhidrat ve protein metabolizması, protein sentezi, nükleik asit metabolizması, epitel doku bütünlüğü, hücre onarımı ve bölünmesi, bazı vitaminlerin taşınması ve kullanımını içeren 200'den fazla enzim sisteminin temel bir bileşenidir. Çinkonun östrusun başlangıcı ve devamlılığı için gerekli olduğu bilinmektedir. Ayrıca, doğumdan sonra uterus onarımı ve yenilenmesinde kritik bir role sahiptir (19, 21).

Bakır; bakteriyel enfeksiyonlara karşı doku duyarlılığını artıran, bağ dokularının ve kan damarlarının yapısal sağlamlığını ve elastikiyetini geliştiren süperoksit dismutaz, lisil oksidaz ve tiyol oksidaz dâhil olmak üzere çok sayıda enzimin gerekli bir bileşenidir. Bakır eksikliğinin yol açtığı üreme ile ilgili semptomlar arasında erken embriyonik ölümler, embriyonun rezorpsiyonu ve plasenta nekrozu yer alır.

Manganez; östrojen, progesteron ve testosteron gibi hormonların üretiminde hayati rolü olan bir elementtir. Manganezdeki bir eksiklik östrusun baskılanmasına, sıklık ovaryumlara ve gebe kalma oranının azalmasına neden olur (21).

İyot, metabolizma hızını düzenleyen tiroid hormonundan tiroksinin sentezi için gereklidir. Üreme, iyotun tiroid bezi üzerindeki etkisinden etkilenir. Yetersiz tiroid fonksiyonu gebe kalma oranını ve yumurtalık aktivitesini azaltır. Damızlık dişilerde subklinik iyot eksikliği belirtileri baskılanmış östrus, uzayan gebelik süreleri, erken embriyonik ölümler ve ölü doğumlardır. Bu sebeplerden dolayı ineklerin her gün 15-20 mg iyot tüketmesini sağlamak için gerektiğinde iyot takviyesi önerilmektedir.

Potasyum, yüksek miktarda alındığında üreme fonksiyonlarına zarar veren bir elementtir. İhtiyaçtan fazla alındığında yumurtlamayı geciktirerek, korpus luteum gelişimini bozarak ve anöstrus insidansını artırarak fertilitiyi düşürdüğü bilinmektedir (20, 21).

Tuz (sodyum ve klor) ise sindirim etkinliğini ve dolaylı olarak üreme performansını etkileyebilir (20-22).

### 3.1.4. Vitaminler

Süt ineklerinin vitamin gereksinimleri, rumen ve doku sentezinin kombinasyonu, doğal yemler ve yem takviyesi ile karşılanır. Ticari yemlerin çoğu ek vitaminler içerir, bu nedenle vitamin eksikliğinden kaynaklanan döl verimi problemleri büyük ölçüde azalır. Vücut kondisyonunu kontrol etmek veya azaltmak için yem alımı kısıtlandığında ve/veya düşük kaliteli yem verildiğinde mutlaka rasyonlarda uygun vitamin ve mineral dengesi sağlanmalıdır (5, 23, 24).

Hücrel büyüme ve farklılaşmayı, gelişmeyi ve doku fonksiyonlarını düzenleyen A vitamini, üreme sistemi üzerinde en fazla etkisi olan vitamindir. Metabolitleri, ovaryumların foliküler büyümesini ve oosit olgunlaşmasını etkiler. A vitamini eksikliğinin hipofiz bezi, gonadlar, uterusun yapısı ve işlevi üzerinde doğrudan etkisi vardır. Yetersizliğinin sığırlarda cinsel olgunluk yaşının uzaması, embriyonik ölümler, uterus involüsyonunun gecikmesi, kistik over insidansında artış ve metritise yol açtığı bildirilmiştir. Vitamin E, B12 ve folik asitin de döl verimi üzerinde önemli rollerinin olduğu bilinmektedir. Yapılan araştırmalarda bu vitaminlerin eksikliğinde suböstrus, ovulasyonda gecikme, progesteron sentezinde zayıflama, folliküler ve luteal kistlerde artma, embriyonik ve fetal ölümler görülebileceği bildirilmektedir. Ayrıca yavru zarlarının atılmaması, involüsyonun gecikmesi, uterus enfeksiyonları, gebelik başına düşen tohumlama sayısında artış ve gebe kalma oranında düşüş gibi istenmeyen durumlar ortaya çıkmaktadır (23-25).

### 3.2. Yaş

İneklerde yaş ve doğum sayısının folikül stimulan hormon ve LH seviyelerini olumsuz yönde etkilediği ve buna bağlı olarak RBS görülme oranının yaş ilerledikçe arttığı belirtilmektedir (4, 5). Konu ile ilgili olarak yürütülen bir çalışmada 15 aylık ile 5 yaş arası Holştayn sığırlarda yaş ilerledikçe gebe kalma oranında bir azalma meydana geldiği kanısına varılmıştır (26). Farklı bir araştırmada da benzer şekilde

yaşlı ineklerde gebe kalmanın zor olduğu ve gebelik oranının gençlere göre düşük olduğu bildirilmiştir (27). Macfarlane ve Goldchild ineklerde fertilitenin 4 yaşına kadar arttığını, 4-6 yaş arasında sabit kaldığını ve daha ileriki yaşlarda ise düştüğünü tespit etmişlerdir (28). Osoro ve Wright 7 yaşından daha büyük Hereford x Friesian ineklerde gebelik oranının düşmeye başladığını belirlemişlerdir (29). Kruij; tohumlanan bir ineğin yaşının, gebelik oranı üzerinde belirgin bir etkiye sahip olduğunu ve 7 yaşından büyük hayvanlarda ilk tohumlamadan sonraki gebelik oranlarının daha düşük olduğunu ifade etmiştir (30).

### 3.3. Sıcaklık ve Mevsim

Sığırların metabolik ve fizyolojik faaliyetleri, hijyen ve sağlık durumu ile verimleri bakımından en önemli çevre şartlarından birisi ahır sıcaklığıdır. İnsanlar için normal olan ortam sıcaklığı, bu hayvanları rahatsız etmektedir. Çünkü sığırlar sıcak yerine serin hatta belli bir dereceye kadar soğukta rahat ederler. Optimum ahır sıcaklığı bölgenin iklimi, mevsim, rutubet, yemleme ve bakım yanında hayvanların yetiştirilme şekli, yaşı ve sağlık durumuna göre değişmektedir (5). Sıcaklık stresi ineklerde ovaryum aktivitesini olumsuz etkilemekte ve oosit ve embriyo kalitesini düşürerek döl verimi kayıplarına neden olmaktadır (5, 30).

Yapılan farklı çalışmalarda döl tutmada mevsimsel varyasyonların olduğu, ılıman bölgelerde en iyi sonuçların ilkbaharda elde edildiği ve özellikle yaz aylarında RBS insidansının arttığı bildirilmiştir (5, 30-33). Kış aylarındaki gebelik oranının, ilkbahara göre düşük olması ise daha az gün ışığı ve östrus belirtilerin daha zayıf olmasına bağlanmıştır (30).

Sıcaklık stresinin olmadığı soğuk ve ılık mevsimlerde gebelik oranı %40-60 civarında gözlenirken, yaz aylarında sıcak stresinin şiddetine bağlı olarak %20-40 seviyelerine kadar düşebilmektedir (4, 5, 34).

### 3.4. Işık

Aydınlatma çiftlik hayvanlarının bulunduğu ortamın mikro ikliminin temel bileşenlerinden biri olup, birbirleri ile teması noktasında hayvan refahının da en önemli unsurlarındandır (5, 35). İnekleri sağlıklı bir şekilde yaşatmak ve onlardan istenilen düzeyde verim almak için barınaklardaki ışık yoğunluğu ve süresi büyük önem taşımaktadır. Günlük ışık miktarı arttıkça, döl tutma oranının da paralel olarak arttığı bilinmektedir. Uzun aydınlatmanın düvelerin ve ineklerin daha iyi beslenmelerine olanak sağlayarak büyümelerini hızlandırdığı, daha erken yaşta cinsel olgunluğa gelmelerini sağladığı ve üretkenliklerini arttırdığı ortaya konulmuştur (5, 36).

### 3.5. Gezinti ve Hareket Alanı

Egzersiz normal bir döl verimi için esas olmakla beraber, inekler açık havada bulundurulursa kızgınlıkları daha kolay saptanmaktadır. Bununla birlikte sağlıklı bir sürü için egzersizin esas olduğu da bilinmektedir (5).

### 3.6. Hastalıklar ve Genital Organlardaki Mekanik Yaralanmalar

Genital enfeksiyonlar ve hastalıklar, genelde doğumu takiben özellikle uterus ve servikse çeşitli mikroorganizmaların bulaşması sonucunda ortaya çıkar. Bu tip bulaşmaların genellikle herhangi bir tedaviye gerek kalmadan, doğumdan 40-45 gün sonra kaybolduğu görülmektedir. Normal periyot ve sürede yeniden kızgınlığın görülmesi, iyileşmenin belirtisidir. Ancak yavru zarlarının atılamaması (Retensiyo Sekundinarum) gibi bazı durumlarda enfeksiyon oldukça şiddetli seyredebilir, zamanında doğru bir sağaltım da yapılmazsa kalıcı döl verimi problemleri ile karşı karşıya kalınabilir (5).

Mastitis süt ineklerinde en fazla görülen hastalık olup, fertilitiyi önemli derecede etkiler. Büyük oranda gebe hayvanların uygun olmayan prosedürlerde kuruya alınması ve doğum esnasındaki hijyen eksikliklerinden dolayı görülür. Hem klinik, hem de subklinik mastitisin abortlara ve döl tutmama sorunlarına yol açtığı tespit edilmiştir (37).

Laminitis hayvanların tırnak duvarında meydana gelen dermal ve epidermal laminaların yangısıdır ve üreme performansını etkileyen önemli sorunlardandır. Düzenli tırnak bakımı ve ayak banyosu kullanımı ile büyük ölçüde önlenilebilir bu hastalık gebelik oranında azalma, abort ve ovaryum kistlerinde artış gibi önemli sorunlara sebep olmaktadır (38, 39).

Genital organlardaki mekanik yaralanmalar, genellikle çok iri boğalardan alınan spermalar ile yapılan suni tohumlamalar sonucunda oluşan buzağının doğum kanalına göre iri olmasından dolayı doğum sırasında meydana gelir. Çoğu zaman ilk buzağına gebe kalan düvelerde görülür. Ayrıca çok iri boğalar aşım sırasında da yaralanmaya neden olabilir. Bu yaralanmalar, üreme organlarında kalıcı hasarlara yol açarak o inekten bir daha yavru alınamamasına sebebiyet verebilir (5).

### 3.7. Seksüel Dinlenme

Maksimum döl verim etkinliğinin sağlanması için, ineklerin doğumdan sonra, çok kısa bir süre içerisinde tekrar tohumlanması yanlış bir uygulamadır. Her ne kadar üreme organları doğumu izleyen 6 hafta içinde normal ölçülerine ve fonksiyonlarına dönme sürecini tamamlasa da, ineğin 60 günden önce tohumlanması doğru değildir. Yapılan araştırmalarda en yüksek döl tutma oranının, doğum sonrası 70-90. günlerde yapılan tohumlamalardan sağlandığı belirlenmiştir (4, 5).

### 3.8. Doğal Aşım veya Suni Tohumlamaya İlişkin Sorunlar

Üreticilerin çoğu boğa kullanıldığında gebelik oranlarının suni tohumlamaya göre belirgin olarak artış gösterdiğine inanmaktadır. Ancak bilinmelidir ki, kızgınlık zamanı doğru belirlendiği ve tohumlama işlemi doğru uygulandığında suni tohumlamada da doğal aşımaya yakın gebelik oranı sağlanabilir. Doğal aşım yaptırılan erkek damızlıkların kötü bakım ve beslenme koşullarında barındırılmasına, fiziksel kusur ve yaralarına, genital enfeksiyon ve hastalıklarına, doğmasal anomalilerine, yeterli egzersiz yapma imkânı bulamamalarına ve bu hayvanlara gereğinden fazla aşım yaptırılmasına bağlı olarak döl verimi özellikleri düşük olabilir. Ayrıca östrus tespitindeki aksaklıklar ve yanlış zamanda tohumlama, suni tohumlama yapan kişinin becerisi ve tohumlama tekniği, kullanılan spermanın kalitesi (alınma, dondurulma, saklanma ve çözündürülme aşamalarındaki özen) RBS üzerinde etkili olan faktörlerdendir (4, 5, 7, 30, 40-42).

### 3.9. Diğer Faktörler

Bakıcıların hayvanlara karşı kötü davranışları, sürülerin büyüklüğü RBS’de rol oynayan ve genellikle göz ardı edilen diğer yönetimsel faktörlerdir (4, 13, 30). Ayrıca özellikle çayır-mera hayvancılığında çayır üçgülü gibi fitoöstrojenik bitkiler döl tutmama sebebi olabilir. Tüm bunlara ek olarak sebebi bilinmeyen bazı durumlarda da RBS görülebilmektedir (5).

## 4. SONUÇ

Süt sığırcılığında sürü yönetiminin en önemli hedeflerinden birisi kârlılık olup; bu işletmelerde üreme yönetimi, genel verimliliğin kilit belirteçleridir. Çünkü hedeflenen verimin elde edilmesi ve sürünün devamı, yüksek döl verimine bağlıdır. İyi bir döl verimi, daha yüksek günlük süt verimi, yıllara göre daha fazla buzağı üretimi ve daha yüksek bir verim için daha fazla seleksiyon imkânı sağlamaktadır. Döl verimi, sürü yönetiminden büyük ölçüde etkilenen bir kriterdir. RBS; sütçü ineklerde doğum-yeniden gebe kalma aralığını uzatan ve oluşumunda birçok faktörün etkili olduğu önemli bir sorundur. Bu bildiride RBS’nin yetiştirmeye bağlı muhtemel sebepleri üzerinde durulmuştur.

## 5. KAYNAKLAR

1. Ata A. (2013). Sütçü Sığırlarda Döl Verimi Ölçütlerinin Güncel Yorumu. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 1 (1): 30-41.
2. Erdem H. (2020). İneklerde Gebeliğin Elde Edilmesi ve Döl Verimi ile İlgili Kayıplar. Buzağı Sağlığı ve Yetiştiriciliği. Medisan Yayın Serisi: 89, ISBN 978-975-7774-88-4.
3. Kumlu S, Akman N. (1999). Türkiye Damızlık Siyah Alaca Sürülerinde Süt ve Döl Verimi. Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi, 39 (1): 1-15.
4. Alaçam E. (Ed). (2001). Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite. Medisan Yayın Serisi: 40, ISBN 975-7774-37-5.
5. Özhan M, Tüzemen N, Yanar M. (2009). Büyükbaş Hayvan Yetiştirme (Süt ve Et Sığırcılığı). Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Yayınları, Yayın No: 134, ISBN 975-442-094-7.
6. Taşal İ. (2011). İneklerde Repeat Breeder (Dönen İnek) Sendromunun Klinik Yönden İrdelenmesi. Türkiye Klinikleri Veteriner Bilimleri Dergisi, 2 (1): 74-84.

7. Cakici Y, Akoz M. (2017). An Important Problem in Dairy Cows: Repeat Breeder. *International Journal of Scientific and Technological Research*, 3 (3): 1-7.
8. Purohit GN. (2008). Recent developments in the diagnosis and therapy of repeat breeding cows and buffaloes. *CABI Reviews*, 3 (62): 1-34.
9. Gümen A, Mecitoğlu G, Keskin A, Karakaya E, Alkan A, Taşdemir U, Okut H. (2012). The Effect of Intrauterine Cephapirin Treatment After Insemination on Conception Rate in Repeat Breeder Dairy Cows Subjected to the Progesterone-Based Ovsynch Protocol. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 36 (6): 622-627.
10. Aköz M, Dinç DA. (2001). Döl Tutmayan (Repeat Breeder) İneklerde PGF2 $\alpha$  ve İntrauterin Köpük Sprey (Rifaximina) Uygulamalarının Gebe Kalma Oranı Üzerine Etkisinin Araştırılması. *Hayvancılık Araştırma Dergisi*, 11 (2): 51-56.
11. Rodney RM, Celi P, Scott W, Breinhild K, Santos JEP, Lean IJ. (2018). Effects of Nutrition On The Fertility of Lactating Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science*, 101(6), 5115-5133.
12. Bindari YR, Shrestha S, Shrestha N, Gaire TN. (2013). Effects of Nutrition on Reproduction- A Review. *Advances in Applied Science Research*, 4 (1): 421-429.
13. Berry DP, Friggens NC, Lucy M, Roche JR. (2016). Milk Production and Fertility in Cattle. *Annual Review of Animal Biosciences*, 4: 269-290.
14. van Knegsel AT, van der Drift SG, Čermáková J, Kemp B. (2013). Effects of Shortening the Dry Period of Dairy Cows on Milk Production, Energy Balance, Health, and Fertility: A Systematic Review. *The Veterinary Journal*, 198 (3): 707-713.
15. El-Khadmwy HH, Ahmed WM, Hanafi M. (2011). Observations on Repeat Breeding in Farm Animals With Emphasis on its Control. *Journal of Reproduction and Infertility*, 2 (1): 1-7.
16. Blanchard T, Ferguson J, Love L, Takeda T, Henderson B, Hasler J, Chalupa W. (1990). Effect of Dietary Crudeprotein Type on Fertilization and Embryo Quality in Dairy Cattle. *American Journal Of Veterinary Research*, 51: 905-908.
17. Elrod CC, Butler WR. (1993). Reduction of Fertility and Alteration of Uterine pH in Heifers Fed Excess Ruminally Degradable Protein. *Journal of Animal Science*, 71: 694-701.
18. Schweigert FJ, Zucker H. (1988). Concentratio of Vitamin A, Beta-Carotene and Vitamin E in Individual Bovine Follicles of Different Quality. *Journal of Reproduction and Fertility*, 82: 575-579.
19. Boland MP, Lonergan P, Callaghan O. (2001). Effect of Nutrition on Endocrine Parameters, Ovarian Physiology, and Oocyte and Embryo Development. *Theriogenology*, 55: 1323-1340.
20. Wiltbank MC, Weigel KA, Caraviello, DZ, Recent studies on nutritional factors affecting reproductive efficiency in U.S. dairy herds, *Western Dairy Management Conference*, 2007
21. Patterson HH, Adams DC, Klopfenstein TJ, Clark RT, Teichert B. (2003). Supplementation to Meet Metabolizable Protein Requirements of Primiparous Beef Heifers: II. Pregnancy and Economics. *Journal of Animal Science*, 81: 503-570.
22. Hess BW, Moss GE, Rule DC. (2008). A Decade of Developments in the Area of Fat Supplementation Research with Beef Cattle and Sheep, *Journal of Animal Science*, 86: 188-204.
23. Ayaşan T, Karakozak E. (2010). Hayvan Beslemede B-Karoten Kullanılması ve Etkileri. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16 (4): 697-705.
24. Ataman MB, Erdem H, Bülbül B, Haliloğlu S, Çınar M, Aköz M. (2010). Plasma  $\beta$ -Carotene, Vitamin A and Vitamin C Levels in Cyclic and Pregnant Cows. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16 (4): 579-584.
25. Ergene O, 2009. Repeat breeder ineklerde tohumlamayı izleyen farklı günlerde PRID ve GnRH ile sağaltım girişimleri. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

26. Türk G. (2010). Aksaray Koçuş Tarım İşletmesinde Yetiştirilen Holştayn Düve ve İneklerde Tohumlama Yaşı ile Gebelik Oranı Arasındaki İlişki. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi, 24 (3):143-147.
27. Fuerst-Waltl B, Reichl A, Fuerst C, Baumung R, Sölkner J. (2004). Effect of Maternal Age on Milk Production Traits, Fertility and Longevity in Cattle. Journal of Dairy Science, 87: 2293-2298.
28. Macfarlane JS, Goldchild A. (1973). The Effect of Age of Female on Fertility of Zebu Cattle. Tropical Animal Health and Production, 5: 128-132.
29. Osoro K, Wright A. (1992). The Effect of Body Condition, Live Weight, Breed, Age, Calf Performance, and Calving Date on Reproductive Performance of Spring-Calving Beef Cows. Journal of Animal Science, 70: 1661-1666.
30. De Kruif A. (1978). Factors influencing the fertility of a cattle population. Reproduction, 54 (2): 507-518.
31. Topuzoğlu B, Baştan A. (2010). Sütçü İneklerde Isı Stresinin Döl Verimi Üzerine Etkisi. Veteriner Hekimler Derneği Dergisi, 81(2): 29-32.
32. Arı UÇ. (2015). Sığırlarda Isı Stresinin Fizyolojik ve Hormonal Olarak Üremeye Etkisi. Türkiye Klinikleri Dölerme ve Suni Tohumlama - Özel Konular, 1(1): 1-10.
33. Berman A. (2011). Invited Review: Are Adaptations Present to Support Dairy Cattle Productivity in Warm Climates? Journal of Dairy Science, 94(5): 2147-2158.
34. Peralta OA, Pearson RE, Nebel RL. (2005): Comparison of Three Estrus Detection Systems During Summer in A Large Commercial Dairy Herd. Animal Reproduction Science, 88: 155-167.
35. Ulimbashev M. (2011). More Light More Milk (Effect of Lightning of Barns on Milk Production of Cows). Animal Husbandry in Russia, 9 - 51.
36. Aydın A, Çay A, Polat B, Or A. (2020). Çanakkale İli Ticari Süt Çiftliklerinde Aydınlatma Koşullarının Değerlendirilmesi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 8 (2): 289-299.
37. Chebel RC, Santos JE, Reynolds JP, Cerri RL, Juchem SO, Overton M. (2004). Factors Affecting Conception Rate After Artificial Insemination and Pregnancy Loss in Lactating Dairy Cows. Animal Reproduction Science, 84: 239-255.
38. Kılıç N, Ceylan A, Serin İ, Gökbulut C. (2007). Possible Interaction Between Lameness, Fertility, Some Minerals, and Vitamin E in Dairy Cows. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy, 51 (3): 425-429.
39. Walsh SW, Williams EJ, Evans ACO. (2011). A Review of the Causes of Poor fertility in High Milk Producing Dairy Cows. Animal Reproduction Science, 123:127-138.
40. Kurykin J, Hallap T, Jalakas M, Padrik P, Kaart T, Johannisson A, Jaakma Ü. (2016). Effect of Insemination-Related Factors on Pregnancy Rate Using Sexed Semen in Holstein Heifers. Czech Journal of Animal Science, 61 (12): 568-577.
41. Brito LFC, Silva AEDF, Rodrigues LH, Vieira FV, Deragon LAG, Kastelic JP. (2002). Effects of Environmental Factors, Age and Genotype on Sperm Production and Semen Quality in Bos Indicus and Bos Taurus AI Bulls in Brazil. Animal Reproduction Science, 70 (3-4): 181-190.
42. Wattiaux MA. (Önol AG, Çeviri Ed.). (2008). Teknik Süt Sığırcılığı Rehberi (Üreme ve Genetik Seleksiyon). Adnan Menderes Üniversitesi Yayınları, Yayın No: 29, ISBN 978-975-8254-33-0.

COVID-19 SÜRECİNİN VETERİNER HEKİMLER ÜZERİNE ETKİLERİ  
EFFECTS OF THE COVID-19 PROCESS ON VETERINARY

<sup>1</sup>*Raziye Filiz AKKUŞ*

<sup>1</sup>*Öğretim Görevlisi, Ardahan Üniversitesi, Teknik Bilimler MYO, Ardahan, Türkiye*

<sup>1</sup>*ORCID ID: 0000-0003-4676-3241*

<sup>2</sup>*Vedat BARAN*

<sup>2</sup>*Prof.Dr., Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Kars, Türkiye*

<sup>2</sup>*ORCID ID: 0000-0003-3466-5345*

**ÖZET**

Bu araştırma, ülkemizi ve dünyamızı pandemi sürecine iten Covid-19' un Veteriner hekimler üzerinde oluşturduğu istenmeyen etkilerinin araştırılması ve değerlendirilmesi amacıyla yapılmıştır. Sağlık alanında yaşanan sorunların gündeme gelmesine rağmen veteriner hekimlerin yaşadığı sorunlar gündeme gelmemekte, gelse bile çok önemsenmemektedir. Sağlık sorununda yaşanan sorunların yanı sıra Veteriner hekimliğinde de birçok sorun yaşanmaktadır. Koronavirüs ailesi aslında veteriner hekimler tarafından uzun yıllardır tanınan ve bilinen virüsler olmasına rağmen insanlara bulaşmaması nedeni ile salgının oluşma zamanına kadar hayvan sağlığı açısından değerlendirilmiştir. Veteriner hekimler hayvan sağlığı ile olduğu kadar insan sağlığıyla da yakından ilgilidirler. Hayvan da oluşabilecek her türlü hastalık zoonoz olabileceği gibi gıda ile de insan sağlığını etkilemektedir. Veteriner hekimler bu bağlamda koronavirüs ve diğer viral etkenlere karşı mücadele yöntemlerini bilmekte ve bunu hem hayvan sağlığı hem de insan sağlığı açısından göz önünde bulundurabilmektedir. Veteriner hekimler mücadele önlemleri dahilinde yer alan serum, aşı ve biyolojik madde çalışmalarında da sorumluluk sahibidirler. Salgın sürecinde korona virüs özelinde yaşanmış salgın hastalıklarda veteriner hekimlerin önemi ve rolü yadsınamaz bir gerçektir. Bu zorlu süreçte yapmış oldukları hizmetlerin önemli bir değere sahip olduğu bilinmeli, hayvan ve toplum sağlığının korunmasında Veteriner hekimlerin önemli bir paydaş olduğu kabul edilmeli ve sağlık alanındaki çalışmaları ve değerlendirmeleri dikkate alınarak sağlık politikaları düzenlemesi içerisinde yer almalıdırlar.

657 sayılı konuna göre sağlık hizmetleri sınıfında olan Veteriner hekimler pandemi sürecinde sağlık çalışanları kadar hatta bazı zamanlarda onlardan daha yoğun çalışmış olmalarına rağmen sağlık çalışanı statüsünde değerlendirilmemiştir. Bu sebeplerden dolayı bu salgın hastalıklar, sokağa çıkma yasağı ve diğer etkilere rağmen Veteriner hekimlerin 7/24 çalışma saati olan meslek grubu içerisinde yer aldığını ve zorlu şartlarda dahi çalıştıklarını belirtmek amacıyla bu araştırma yapılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Covid 19, Veteriner Hekim, Pandemi

**ABSTRACT**

This research was conducted to investigate and evaluate the undesirable effects of Covid-19, which pushed our country and our world into the pandemic process, on veterinarians. As in the field of health, there are many problems in veterinary medicine. Although the corona virus family has been recognized and known by veterinarians for many years, it has been evaluated in terms of animal health until the time of the epidemic, since it is not transmitted to humans. Veterinarians are closely related to human health as well as animal health. All kinds of diseases that may occur in animals can be zoonotic, as well as affect human health with food. In this context, veterinarians know the methods of combating coronavirus and other viral agents and can consider this in terms of both animal health and human health. Veterinarians are also responsible for serum, vaccine and biological substance studies, which are included in the control measures. It is an undeniable fact that the importance and role of veterinarians in the epidemic diseases experienced during the epidemic process, specific to the corona virus, are



undeniable. It should be known that the services they have done in this difficult process have an important value, veterinarians should be accepted as an important stakeholder in the protection of animal and community health, and they should be included in the regulation of health policies, taking into account their studies and evaluations in the field of health.

Despite the fact that veterinarians, who are in the health services class according to the issue number 657, have worked as much as, or even more intensely, than health workers during the pandemic process, they have not been evaluated as health workers. For these reasons, this research was conducted to indicate that despite these epidemics, curfews and other effects, veterinarians are included in the professional group with 24/7 working hours and they work even under difficult conditions.

**Keywords:** Covid 19, Veterinarian, Pandemic

## GİRİŞ

COVID-19 Çin'in Vuhan şehrinde, 17 Kasım 2019'da bildirilen ilk vakada yapılan değerlendirmeler sonucunda SARS-CoV-2 olarak tanımlanmıştır.(4, 10) Tüm dünyayı oldukça kısa bir sürede ele geçiren bu salgın 30 Ocak 2020'de meydana gelen hızlı yayılma ve hastalık oluşumu göz önünde bulundurularak Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından halk sağlığı için uluslararası acil bir durum olarak değerlendirilmiştir. Bu acil değerlendirme sonucunda tüm dünyayı etkisi altına alan bu durum 11 Mart 2020 de pandemi olarak ilan edilmiştir.(6, 7, 8) Tam da bugünden sonra günlük yaşamımızda birçok değişiklik oluşmuştur. Bu değişiklikler içerisinde özellikle başta sağlık olmak üzere eğitim ve ekonomi ana başlıklar olarak söylenebilir.(1) Sağlık açısından önemli etkilere neden olan virüs *Coronaviridae* ailesinden viral zarfa sahip, 30 kB genom büyüklüğünde segmentsiz pozitif polariteli RNA viruslardır, kendilerine has replikasyon stratejileri elektron mikroskop altındaki corona veya taç benzeri görüntülerinden kaynaklı olarak isimlendirilmişlerdir.(15)

Pandemi ile tanıştığımız düşünülen koronavirüsler aslında hayatın içinde var olan virüslerdir. Hayvandan insana ve insandan insana bulaşması hakkında herhangi bir vaka olmamasından dolayı çok bilinmemektedir.

Hayvanlarda ilk olarak 1930 yılında akut solunum yolu enfeksiyonu olan evcil bir tavukta tanımlanmış olmasına karşın, insanlarda 1960 yılında keşfedilmiştir.(5) Koronavirüsler, tıp hekimlerine tarafından az biliniyor veya hiç bilinmiyor olmasına karşın veteriner hekimler tarafından uzun yıllardır bilinen ve hayvanlarda solunum veya gastrointestinal bozukluklarla ortaya çıkan hastalıkların varlığına sebep olmuş olmasından dolayı bu virüslere karşı tecrübe kazanmışlardır. Bu virüsler birçok canlıda hastalık oluşturabilmektedir. İnsan, koyun-keçi gibi çiftlikte yetiştirilen hayvanlar, deney amacıyla kullanılan hayvanlar, yabani hayvanlar, at ve yarasalarda hastalığa neden olmaktadır.(11) Covid-19 salgını ülkemiz ve dünya genelinde oldukça hızlı bir şekilde yayılmış ve fazla sayıda ölümlere yol açmıştır. Yaşamın rutinini etkileyerek ciddi sorunlara neden olmuştur. Gündelik yaşamı, online bir süreçle eğitim-öğretimi, sanatsal, kültürel ve bilimsel etkinlikleri, üretimi, tüketimi, ekonomiyi, uluslararası ilişkileri ve özellikle de çalışma hayatını önemli ölçüde etkilemiş ve buna bağlı olarak bir çok alanda sorunlar yaratmış ve bu sorunların sonucunda da tüm dünya alışılmadık ve yeni bir döneme girmiştir.(3,17) Bu süreçte Veteriner hekimler aslında yıllar öncesinden tanıyor ve biliyor oldukları koronavirüslerle mücadelede sağlık çalışanları kadar ve hatta bazı zamanlarda daha fazla çalışmış olmalarına rağmen sağlık çalışanı olarak nitelendirilmemişlerdir. Ayrıca aşı sürecinde de ilk aşı programında yer verilmemiştir. Bu sebeplerden dolayı bir veteriner hekim olarak hem kendimi ve eşimi hem de meslektaşlarımı yakından ilgilendiren bir süreç olması sebebiyle ve az sayıda çalışma yapılmasından dolayı bu konuya değindik.

## GELİŞME

Pandemi sürecini yaşamımızda önemli bir yere sahip olan evcil ve evcil olmayan hayvanlar ve bu hayvanların sağlığı, korunması ve kontrolünde özellikle de zoonoz hastalıklarla mücadele açısından veteriner hekimler için bazı sorunlara yol açmıştır. Veteriner hekimlerin yanı sıra veteriner fakültesi öğrencileri de olumsuz etkilenmiştir. Aşı çalışmalarında hem insan hem de hayvan sağlığı açısından veteriner hekimler çaba sarf etmektedirler. Bununla birlikte hayvan sağlığı dışında hayvan haklarını da korumak ve bu konu da bilgilendirme çalışmaları da yapmaktadırlar. Veteriner hekimler gerekli tüm önlemleri alarak hem özel hizmet veren klinikler hem de hayvan hastanelerinde hasta tedavi etmeyi

sürdürmüşlerdir. Saha da çalışan veteriner hekimler düzenli olarak muayenelerine devam etmiş ve çiftliklerde çalışanlar da rutin aşılama ve muayenelerini gerçekleştirmişlerdir. Bununla beraber üniversite hastanelerinde görevli olan hekimler ve öğretim üyeleri de gelen hastaları muayene etmişlerdir. Veteriner hekimliği öğrencileri de hibrit eğitim süresince hasta başında eğitimlerine devam etmişlerdir. Pandeminin getirmiş olduğu stres ve kaygılara bağlı olarak öğrenciler eğitim süresi boyunca online derslere katılım da çok etkili olamamışlardır. Sosyal, psikolojik, sağlık ve aile problemleri ile yakınlarını kaybetmenin vermiş olduğu üzüntü ile eğitim yaşamları olumsuz etkilenmiştir.(1)

Yungher ve arkadaşlarının İstanbul'daki bir üniversite de okuyan öğrenciler ile yaptıkları bir anket çalışmasında COVID-19 tedbirleri nedeniyle maddi ve manevi yönden etkilendikleri, yurtların kapanmasına bağlı olarak çoğunluğu nüfus kalabalığının fazla olduğu ailelerinin yaşadığı illere dönmek zorunda kaldıkları, sosyal olarak etkilendikleri ve dijital ortamda çok zaman geçirdikleri, sonucunda da yüksek düzeyde sıkıntı yaşadıkları belirtilmiştir.(16) Bir diğer anket çalışmasında da farklı ülkelerden 50 veteriner hekimliği öğrencisinin normal eğitim sürecinde uygulamalı olan derslerin online yapılmasının uygun olmadığı derslerin online öğrenilmesinin oldukça zor olduğu ve veteriner hekimlik mesleğinin online öğrenimle yapılamayacağını ve mesleki beceri kazanılamayacağını düşündüklerini belirtmişlerdir.(9) Tarım ve Orman Bakanlığı, bakanlığın kendi resmi internet sitesinde pandemi ile başlatılan kapanma tedbirlerinin uygulandığı 2020 yılının başlarında Covid-19 tedbirleri kapsamında 22 maddelik bir biyogüvenlik önlemini içeren "Veteriner Hekimlerin Dikkat Etmeleri Gereken Hususlar" adıyla bir bildiri yayınladı.(12) Pandeminin ilerleyen günlerinde 20 Mart 2020 de var olan ve hızlı bir şekilde yayılım gösteren covid-19 salgınıyla ilgili olarak Türk Veteriner Hekimleri Birliği Merkez Konseyi veteriner hekimlere düşen görev ve sorumlulukları içeren bir bildiri yayınlamıştı. Bu bildiri de ülkemiz genelinde var olan veteriner hekimler oda başkanlarından koronavirüs ile mücadelede kullanılacak ve elzem öneme sahip olan solunum ve yoğun bakım ünitelerinde yer alan cihazların listesi istenir ve ihtiyaç dahilinde kullanılacağı belirtilir. (14)

İlk etapta kullanılacak alet ve ekipman desteğinde serbest veteriner hekimler, hayvan hastaneleri, klinik ve poliklinikler akla gelirken, aşılama noktasında veteriner hekimler nedense ilk sırada yer almamıştır. Normal şartlarda düşünüldüğünde yıllardır koronavirüs ailesi ile ilgilenen gerektiğinde tedavi, kontrol ve aşılama uygulamalarını gerçekleştiren veteriner hekimler pandemi sürecinde ve aşının oluşturulma sürecinde sanki hiç ilgisizlermiş gibi bir algıya neden olunmuştur. Pandemi sürecinden önce zaten her süreçte bu virüs ile ilgili olan veteriner hekimler riskli ve öncelikli grupta olması gerekirken sağlık çalışanı statüsünde değerlendirilmemiştir. (13,14)

Bunun üzerine Türk Veteriner Hekimler Birliği Merkez Konseyi Başkanlığı 2 Aralık 2020 günü bir açıklama yapar, bu açıklama şöyledir; "Bu aşı uygulamasında, yıllardır tek sağlık yaklaşımı kapsamında ve multidisipliner bir iş birliği içerisinde, başta zoonotik hastalıklar ve veteriner halk sağlığı olmak üzere beşeri hekimler ile birlikte mücadele eden veteriner hekimlerin yer almaması son derece üzücü ve düşündürücüdür". Bu açıklamaların dışında veteriner hekimlerin ve özellikle veteriner hekim virolog akademisyenlerin aşı çalışmalarında önemli katkıların var olduğu ve yıllardır süre gelen beceri ve tecrübelerinin önemsenmesi gerektiği ayrıca temaslı ve hasta olan hasta sahipleriyle iletişimde olarak kendi sağlıklarını göz ardı ederek hayvan sağlığını ve ilintili olarak insan sağlığını koruma kontrol açısından mesai kavramı gözetmeksizin çalışmakta oldukları da belirtilmiştir. (14)

Yapılan bu bilgilendirmelere bakılırsa veteriner hekimlerin hem hayvan hem de halk sağlığı için çalıştıkları bunun yanı sıra aşı çalışmalarında da etkin rol aldıkları açıkça belirtilmiş olmasına rağmen 14 Ocak 2021 de tüm sağlık çalışanları aşılanmaya başlanmış olmasına rağmen veteriner hekimler bu aşılama programına dahil edilmemiştir. Yazılı ve görsel basında konu ile ilgili birçok haber yayınlanmış, Türk Veteriner Hekimliği Merkez Konseyi başta olmak üzere, veteriner eğitimi veren fakülteleri, il ve bölgesel olarak görev yapan veteriner hekim odaları, sahada serbest çalışan veteriner hekimler ile Tarım ve Orman Bakanlığı'nda görev yapan ve diğer birimlerde çalışan veteriner hekimler de tepkilerini dile getirmişlerdir. Bu etkileşimler sonucu 3 aylık bir gecikme ile 20 Nisan 2021 de veteriner hekimlere Covid-19 aşısı uygulanmaya başlanmıştır. (13)

2 yılı aşkın bir süredir tüm dünyada etkisini gösteren Covid-19 pandemi süreci belirtmiş olduğumuz gibi ev ve aile yaşamı, sosyal yaşam, ekonomik yaşam ve etik açısından farklı farklı alanlarda insanlar ve hayvanlar üzerinde beklenmedik birçok etkiye neden olmuştur. bu etkilerle beraber veteriner hekimliği

alanında da oldukça etkiye yol açmıştır. Günlük yaşantımızın her alanında etki olan pandemi veteriner hekimliği alanında da hayvan hakları, hayvan refahı, veteriner deontoloji ve etik alanlarına da etki etmiştir. Bir başka önemli sorun ise veteriner hekimliği eğitimi alan öğrencilerin derslerinin online olarak gerçekleştirilmesidir. Bu sorun pandemi sürecinin dışında ileriki dönemlerde de hekimliğin icrası açısından zorluklara ve sorunlara yol açacaktır. (2) Veteriner hekimliği öğrencileri, derslerin online olarak yapılmasında yeterli verimi alamadıkları, uygulamalı derslerin anlaşılır olmadığını ve bu bölümün derslerinin online olarak yapılmasının uygun olmadığını belirtmişlerdir. (1)

## SONUÇ

Sonuç olarak bu çalışmanın günlük yaşantımızda sayısız değişikliğe neden olan pandemi, veteriner hekimliği açısından da hayvan sağlığı ve refahı, hastalık oluşumu, gelişimi ve ilerlemesi yönünden hayvanlar ve hayvanlara bağlı şekillenen zoonoz hastalıklara karşı oldukça yoğun bir mücadele gösteren veteriner hekimler için çalışma hayatını, hem kendi hem de halk sağlığını etkileyen zorlu şartlarda sorunlara yol açmıştır. Pandeminin sadece sağlık çalışanları açısından tehlikeli olmadığını farkına varılması, veteriner hakimlerin hem çalışma şartları hem de zoonoz hastalıklarla mücadelesi bunun yanı sıra halk sağlığının koruma kontrolünde önemli bir rolü olan aşının bulunmasında veteriner virologların çalışmalarının dikkate alınması ve yapılan bu çalışmalarla veteriner hekimliği mesleğine olan etkilerinin değerlendirilmesi açısından bir kaynak olacağını ön görmekteyiz. Ayrıca aşılama programında veteriner hekimlerin sağlık çalışanı olarak değerlendirilmemiş olması, aile ve sosyal ortamda oluşan stres ve kaygular, evden çıkılmanın yasaklandığı dönemlerin dahi veteriner hekimlerin çalışmasında ve özverilerinde azalmaya neden olmamıştır. Son olarak Covid-19 her ne kadar insan sağlığını etkileyen bir durummuş gibi gözükse de halk sağlığının hayvan sağlığıyla birebir ilişkili olduğu unutulmaması gereken bir gerçektir.

## KAYNAKLAR

1. Akdoğan Kaymaz A., Covid-19 Pandemisinin Veteriner Hekimler ve Hayvanlar Üzerine Etkileri, Sağlık Bilimlerinde İleri Araştırmalar Dergisi, Cilt 4, Ek Sayı 1, 2021.
2. Armutak A., Covid-19 Pandemisinde Veteriner Hekimlik Etiği, Sağlık Bilimlerinde İleri Araştırmalar Dergisi, Cilt 4, Ek Sayı 1, Araştırma makalesi, DOI: 10.26650/JARHS2021-950991, 2021
3. Arslan İ, Karagül S. Küresel Bir Tehdit (COVID-19 Salgını) ve Değişime Yolculuk. Üsküdar Üniversitesi Sosyal Bilimler Dergisi, 2020;10:1-36.
4. China's First Confirmed Covid-19 Case Traced Back to November 17".South China MorningPost;March.Available from: URL: <https://www.scmp.com/news/china/society/article/3074991/coronavirus-chinas-firstconfirmed-covid-19-case-traced-back>.Ü, 2020
5. Estola T. Coronaviruses, a New Group of Animal RNA Viruses. Avian Dis 1970;14 (2):330-6.
6. Kuo L. China confirms human-to-human transmission of coronavirus. The Guardian. Retrieved April. Available from: URL: <https://www.theguardian.com/world/2020/jan/20/coronavirus-spreads-to-beijing-aschina-confirms-new-cases>. 2020.
7. Li JY, You Z, Wang Q, Zhou ZJ, Qiu Y, Luo R, Ge XY. The epidemic of 2019-novel-coronavirus (2019-nCoV) pneumonia and insights for emerging infectious diseases in the future. Microbes Infect 22(2):80-5, 2020.
8. Li Q, Guan X, Wu P, Wang X, Zhou L, Tong Y, et al. Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus–Infected Pneumonia. N Engl J Med 382:1199-207, 2020.
9. Mahdy MAA. The Impact of COVID-19 Pandemic on the Academic Performance of Veterinary Medical Students. Front Vet Sci 2020;7:594261. doi.org/10.3389/fvets.594261, 2020
10. Poudel U, Subedi D, Pantha S, Dhakal S. Animal coronaviruses and coronavirus disease 2019: Lesson for One Health approach. Open Vet J10(3):239-51, 2020.
11. Salata C, Calistri A, Parolin C and Palu G. Coronaviruses: a paradigm of new emerging zoonotic diseases. Pathog Dis 77(9):ftaa006. doi:10.1093/femspd/ftaa006, 2020.

12. Tarım ve Orman Bakanlığı Resmi Sayfası. Covid 19 Tedbirleri. Veteriner Hekimlerin Dikkat Etmeleri Gereken Hususlar., Available from: <https://www.tarimorman.gov.tr>, 2020.
13. T.C. Cumhurbaşkanlığı Mevzuat Bilgi Sistemi <https://www.mevzuat.gov.tr/mevzuat?MevzuatNo=6343&MevzuatTur=1&MevzuatTertip=3&https://www.mevzuat.gov.tr/mevzuat?MevzuatNo=657&MevzuatTur=1&MevzuatTertip=5>, 2020.
14. Türk Veteriner Hekimleri Birliği (TVHB) Ana Sayfa-Basın Arşivi. Available from: [tvhb.org.tr/basin-arsivi/](http://tvhb.org.tr/basin-arsivi/), 2020-2021
15. Ün H., Coronaviridae virus ailesi: Genel bir değerlendirme, Journal of Advances in VetBio Science and Techniques J Adv VetBio Sci Tech, 5(1), 1-12, 2020.
16. Yorguner N, Bulut NS., Akvardar Y. COVID-19 Salgını Sırasında Üniversite Öğrencilerinin Karşılaştığı Psikososyal Zorlukların ve Hastalığa Yönelik Bilgi, Tutum ve Davranışlarının İncelenmesi. Nöro Psikiyatri Arşivi, 58:3- 10, 2020.
17. Yücel E. 50 Maddede Salgınlar. Karakarga Yayınları, İstanbul, s.241-62, 2020.

**APPLE: HISTORY, CULTIVATION, HUMAN HEALTH EFFECT AND FUTURE  
PERSPECTIVE**

**ELMA: TARİHİ, YETİŞTİRİLCİLİĞİ, İNSAN SAĞLIĞINA ETKİSİ VE  
GELECEK PERSPEKTİFİ**

**Gülçe İLHAN**

*Asst. Prof. Dr., Ataturk University Agricultural Faculty Department of Horticulture, 25240 Erzurum-Turkey*

<sup>1</sup>ORCID ID: 0000-0003-2335-6846

**Sezai ERCİŞLİ**

*Prof. Dr., Ataturk University Agricultural Faculty Department of Horticulture, 25240 Erzurum-Turkey*

<sup>1</sup>ORCID ID: 0000-0001-5006-5687

**ABSTRACT**

Archaeological remains of apple preserved seeds have been found across Eurasia, and support the idea that apple trees were among the commodities that moved on these early trade routes thus indicated deep connection with the Silk Road-much of the genetic material for the modern apple originated at the heart of the ancient trade routes in the Tien Shan Mountains of Kazakhstan. In addition, the process of exchange caused the hybridization events that gave rise to the large red sweet apple fruits in world-wide markets. According to FAO data, the most produced fruits in the world are bananas, citrus and apples. Among them apples share about 10% of total world fruit production. It is an important fruit species and grown most of the parts of the world. World apple production is very stable in last six years and estimated around 85.000.000 tons. The world's largest apple planting areas and production amount coming from China and more recently apple production in the China increased by 30% compared to the previous years data and became 42.4 million tons. China produce nearly 50% of world apple production. Turkey is also an important apple producer in the world with 4.0 million tons production amounts and ranks 4<sup>th</sup> in the world. World apple export and import volume is also stable in last six years. It is estimated that apple production in the world will move to more northern regions in the world due to climate change scenario.

**General**

The apple fruits belongs to the genus *Malus* is, arguably, the most familiar fruit in the World because it is easily found all markets in all season. It is grown in mainly temperate regions around the world and its history is deeply intertwined with humanity (Gharghani et al., 2010).

Throughout history apples were important for all civilization and have religious and mythological significance in many cultures. The fruit grown from seed shows heterozygosity therefore tend to be very different from those of their parents, and frequently shows lack of desired characteristics. Thus to avoid this problem, generally, apple cultivars are propagated by clonal grafting onto in particular on dwarf rootstocks. Apple trees grown without dwarf rootstocks tend to be larger tree and longer fruitless period. Clonal or dwarf rootstocks are used to control the speed of growth, increase the fruit quality and yield. It also control the size of the tree, allowing for easier harvesting and cultural applications (Way et al., 1990; Milosevic et al., 2019).

There are more than 7.500 known cultivars of apples in the world. However a few cultivars such as Fuji, Jonagold, Granny Smith, Red Delicious, Golden Delicious, Gala, Rome Beauty, Idared dominate world markets for a long time. With breeding studies, different apple cultivars released for different uses including cooking, fresh consumption, cider production etc. (Skendrovic-Babokelic et al., 2007).

Trees and fruit are prone to a number of fungal, bacterial, and pest problems, which can be controlled by a number of organic and non-organic means. In 2010, the fruit's genome was sequenced as part of research on disease control and selective breeding in apple production.

### Wild relatives

*Malus sieversii*, the crab apple, is accepted the original wild ancestor of *Malus domestica*. *M. sieversii*, naturally distributed as wild in the mountains of the southern Kazakhstan, Kyrgyzstan, Tajikistan, and Northwestern China (Spengler, 2019). It is estimated that apple cultivation most likely beginning on the forested flanks of the Tian Shan mountains, progressed over a long period of time and permitted secondary introgression of genes from other species into the open-pollinated seeds. Significant exchange with *Malus sylvestris*, resulted in current populations of apples being more related to crab apples than to the more morphologically similar progenitor *Malus sieversii*. In strains without recent admixture the contribution of the latter predominates. Several recent genetic studies have demonstrated that the modern apple is a hybrid of at least four wild apple populations, and researchers have hypothesized that the Silk Road trade routes were responsible for bringing these fruits together and causing their hybridization (Forsline et al., 2003; Cornille et al., 2012).

### History

Apples are originated in Kazakhstan, in central Asia east of the Caspian Sea. The capital of Kazakhstan, Alma Ata, means “full of apples”. By 1500 BC apple seeds had been carried throughout Europe. The Greeks, Etruscans, and Romans cultivated apples. To the latter goes the credit, during the early centuries of the Christian era, for having carried apple seeds and trees to the British Isles. Many varieties of apples thrived in England. Approximately 750.000 years ago: early Paleolithic food gatherers in (modern) Kazakhstan, central Asia, discovered sour crab apples growing wild in the forest.

Approximately 8.000 years ago: Neolithic farmers in (modern) Asia cultivated wild apples. In Central Asia, where its wild ancestor, *Malus sieversii*, is still found today. Apples have been grown for thousands of years in Asia and Europe and were brought to North America by European colonists.

c. 1300 BC: Egyptians began planting orchards along the Nile Delta.

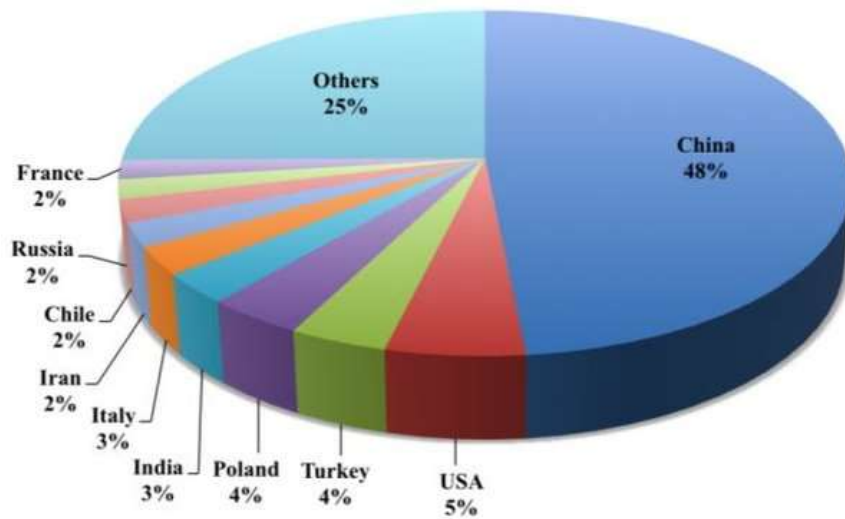
c. 800 BC: Ancient Greeks learned grafting techniques.

c. 200 BC: Ancient Romans planted apple orchards in Britain.

1500s-1600s: Spaniards brought apples to Mexico and South America (Forsline et al., 2003).

### World apple production

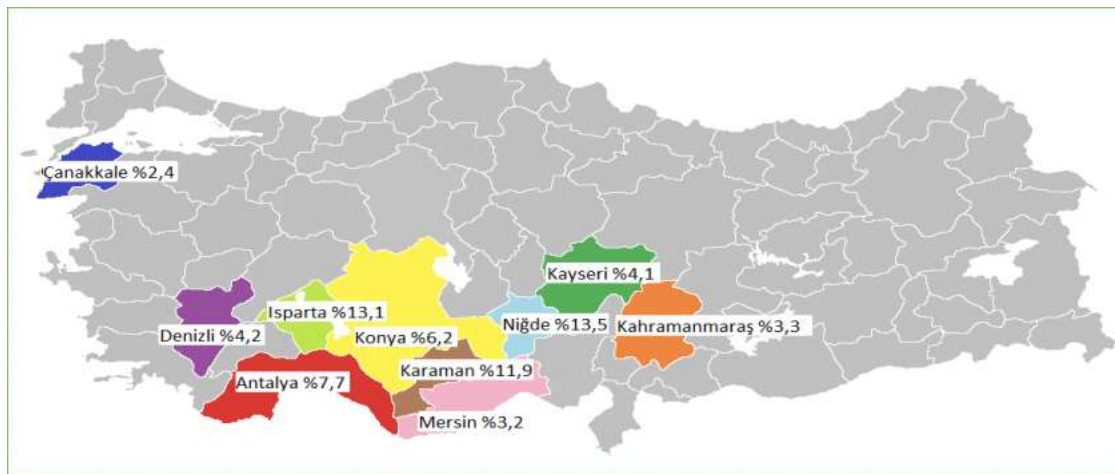
China dominate world apple production and share nearly 50% of the total production. China followed by USA, Poland and Turkey and those countries shares 5%, 4% and 4% of the total world apple production (Figure 1). The other main producers are India, Italy, Iran, Chile, Russia and France, respectively. Since 2002, global apple production has significantly increased by a total of 30% and major apple producer in EU countries such as Poland and Turkey have increased production contributing to the overall supply to the European market. Other important producers e.g. China, India, Chile, South Africa and Brazil are also increasing their production and USA, Italy and Argentina have maintained their production at a stable level. Germany, France, Iran and Russia decreased their production (FAO, 2022). The apple is a convenient fruit available in retail throughout the world all year as a result of its high storability. Its beautiful appearance, crispy flesh, pleasant flavor, and sweetness attract consumers (Ma et al., 2018). The reason for growing apple production has been an increase in average yields while global production areas have remained approximately stable. Innovations in production systems have contributed to this rise: higher planting densities of apple trees, the adoption of dwarf rootstocks allowing first yields already in the second year after planting and new higher yielding cultivars (Milosevic et al., 2019).



**Figure 1.** Top ten countries for apple production in the world.

### Turkey

According to Ministry of Agriculture and Forestry, examining the apple production areas in Turkey, Niğde province has the highest production area with 235 thousand da. The province with the most fruit-bearing trees is Karaman province with 9.2 million trees. Niğde, Isparta, Karaman, Antalya and Konya are main apple growing areas in Turkey with 912 thousand da. Those provinces has Turkey's total apple production with accounts for approximately 52% of the area (Figure 2).



**Figure 2.** Main apple producing areas in Turkey



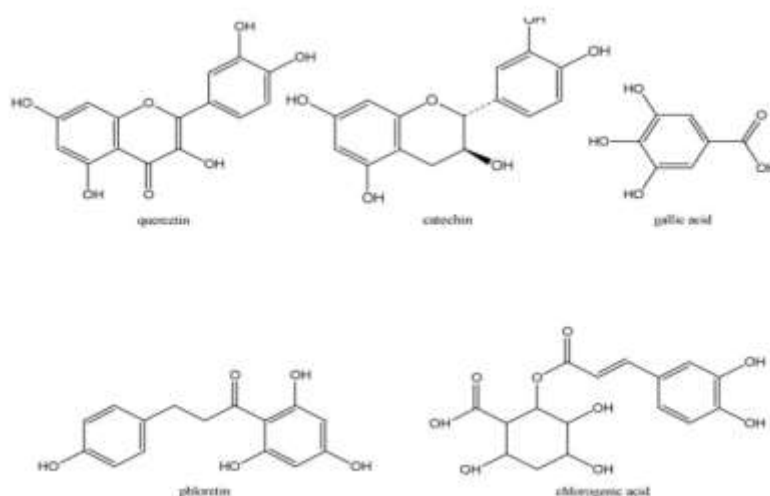
**Figure 3.** Provinces that produce the most apples in Turkey

Nearly 4.0 million tons of apples produced in Turkey. The highest amount obtained from Isparta province with 732 thousand tons and share 20.2% of total production. Isparta is followed by Karaman province with 486 thousand tons (shares 13.4%) and Niğde with 438 thousand tons (Shares 12.1%) (Figure 3).

#### **Apple fruit: Human health and phytpchemicals**

The compounds most commonly found in apple peels consist of the procyanidins, catechin, epicatechin, chlorogenic acid, phloridzin, and the quercetin conjugates (Figure 4). In the apple flesh, there is some catechin, procyanidin, epicatechin, and phloridzin, but these compounds are found in much lower concentrations than in the peels. Quercetin conjugates are found exclusively in the peel of the apples. Chlorogenic acid tends to be higher in the flesh than in the peel. Because the apple peels contain more antioxidant compounds, especially quercetin. Apple peels may have higher antioxidant activity and higher bioactivity than the apple flesh (Eberhart et al., 2000; Łata et al., 2009; Domingos et al., 2017).

In numerous epidemiological studies, apples have been associated with a decreased risk of chronic diseases such as cardiovascular disease, cancer, and asthma. In vitro and animal studies have demonstrated that apples have high antioxidant activity, can inhibit cancer cell proliferation, decrease lipid oxidation, and lower cholesterol, potentially explaining their role in reducing risk of chronic disease. Apples contain a wide variety of phytochemicals, many of which have been found to have strong antioxidant activity and anticancer activity. The interaction of the many apple phytochemicals warrants more study as researchers attempt to further explain the mechanism behind the apple's ability to reduce risk of chronic disease.



**Figure 4.** The most important apple antioxidant compounds



Recent research has shown that apples do contain bioavailable phytochemicals, although more work is needed to better understand the bioavailability of phytochemicals within the apple matrix as opposed to pure phytochemicals. Many factors affect the phytochemical profile of apples, and are important to consider as one attempts to understand and maximize the health benefits of apples. Phytochemical concentrations vary greatly between different cultivars. The level of some phytochemicals varies during maturation of the fruits in response to available light, stage of fruit development and to some types of fertilization. In general, storage of apples does not seem to greatly affect apple phytochemicals, but the processing of apples for juice results in a very significant decrease in phenolics. Processed apple peels retain their phenolic and flavonoid compounds activity and therefore may be used as a value added ingredient with potent antioxidant activity. The potential health benefits of apples are numerous. Regular consumption of fruits and vegetables, including apples, as part of a healthy diet may aid in the prevention of chronic disease and maintenance of good health (Eberhart et al., 2000; Drogoudi et al., 2008; Kanizadeh et al., 2008).

### Future trends

Under global warming conditions, it is expected that winter chilling will be decreased at important apple growing regions in warmer areas in different continent, in particular southern Europe and Mediterranean basin (Malagi et al., 2015; Morais and Carbonieri, 2015). Along with south, the northern areas where apples grown will be exposed to chilling decrease and could be led flowering and fruit set abnormalities. In addition, a stronger inter-annual chill variability may produce to new problems (Guédon and Legave, 2008; Legave et al., 2008).

### REFERENCES

- Boyer, J., Liu, R.H., 2004. Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutrition Journal*. 3, 5.
- Cornille, A., Gladioux, P., Smulders, M. J., Roldán-Ruiz, I., Laurens, F., Le Cam, B., et al. (2012). New insight into the history of domesticated apple: secondary contribution of the European wild apple to the genome of cultivated varieties. *PLoS Genet*. 8:e1002703.
- Cornille, A., Gladioux, P., Giraud, T., 2013. Crop-to-wild gene flow and spatial genetic structure in the closest wild relatives of the cultivated apple. *Evol. Appl.* 6, 737-748.
- Domingos P.F., Gião, A.M.S., Pintado, M., Gomes, M.H., Bioactive phytochemicals in apple cultivars from the Portuguese protected geographical indication “Maçã de Alcobaça:” Basis for market segmentation. *International Journal of Food Properties*, 20 (10), 2206-2214.
- Drogoudi, P.D., Michailidis, Z., Pantelidis, G., 2008. Peel and flesh antioxidant content and harvest quality characteristics of seven apple cultivars. *Scientia Horticulturae*, 115, 149-153.
- Eberhardt, M.V., Lee, C.Y., Liu, R.H., 2000. Antioxidant activity of fresh apples. *Nature*, 405, 903–904.
- Forsline, P.L., Aldwinckle, H.S., Dickson, E.E., Luby, J.J., Hokanson, S.C., 2003. Collection, maintenance, characterization, and utilization of wild apples in Kazakhstan. *Hortic. Rev.* 29, 1-61.
- Gharghani, A., Zamani, Z., Talaie, A., Fattahi, R., Hajnajari, H., Oraguzie, N. C., et al. (2010). The role of Iran (Persia) in apple (*Malus × domestica* Borkh.) domestication, evolution and migration via the Silk Trade Route. *Acta Hortic.* 859, 229–236.
- Gross, B.L., Henk, A.D., Forsline, P.L., Richards, C.M., Volk, G.M., 2012. Identification of interspecific hybrids among domesticated apple and its wild relatives. *Tree Genetics & Genomes* 8, 1223-1235.
- Guédon, Y., Legave, J.M. (2008). Analyzing the time-course variation of apple and pear tree dates of flowering stages in the global warming context. *Ecological Modelling*, 219, 189-199.
- Hanke, M.V., 2017. To what extent do wild apples in Kazakhstan retain their genetic integrity? *Tree Genetics & Genomes* 13:52.

- Khanizadeh, S., Tsao, R., Rekika, D., Yang, R., Charles, M.T., Rupasinghe, V.H.P., 2008. Polyphenol composition and total antioxidant capacity of selected apple genotypes for processing. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21, 396-401.
- Łata, B.; Trąpczyńska, A.; Paczeńska, J., 2009. Cultivar variation in apple peel and whole fruit phenolic composition. *Scientia Horticulturae*, 121, 176-181.
- Legave, J.M., Farrera, I., Almeras, T., Callejai M. (2008). Selecting models of apple flowering time and understanding how global warming has had an impact on this trait. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 83, 76-84
- Ma, B., Yuan, Y., Gao, M., Li, C., Ogutu, C., Li, M., Ma, F., 2018. Determination of predominant organic acid components in *Malus* species: Correlation with apple domestication. *Metabolites*, 8, 74.
- Malagi, G., Sacht, M. R., Citadin, I., Herter, F. G., Bonhomme, M., Regnard, J. L., et al. (2015). The comparison of dormancy dynamics in apple trees grown under temperate and mild winter climates imposes a renewal of classical approaches. *Trees Structure and Function*, 29, 1365–1380.
- Morais, H., Carbonieri, J. (2015). Chilling hours and units in apple orchards with distinct microclimate. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 37, 1–12.
- Milosevic, T., Milosevic, N., Mladenovic, N., 2019. Tree vigor, yield, fruit quality, and antioxidant capacity of apple (*Malus×domestica* Borkh.) influenced by different fertilization regimes: preliminary results. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 43, 48-57.
- Omasheva, M.Y., Flachowsky, H., Ryabushkina, N.A., Pozharskiy, A.S., Galiakparov, N.N., Schnitzler, A., Claire, A., Cornille, A., Bachmann, O., Schnitzler, C., 2014. Wild European apple (*Malus sylvestris* (L.) Mill.) population dynamics: insight from genetics and ecology in the rhine valley. Priorities for a future conservation programme. *PLoS One*, 9:e96596.
- Skendrovic Babojelic, M.; Ivancic, K.; Druzic, J.; Kovac, A.; Voca, S. Chemical and sensory characteristics of three apple cultivars (*Malus×domestica* Borkh.). *Agric. Consp. Sci.* **2007**, 72, 317–322.
- Spengler, R.N., 2019. Origins of the apple: The role of megafaunal mutualism in the domestication of *Malus* and Rosaceous trees. *Frontiers in Plant Science*, 10:617.
- Way, R.D., Aldwinckle, H.S., Lamb, R.C., Rejman, A., Sansavini, S., Shen, T., Watkins, R., Westwood, M.N., Yoshida, Y., 1990. Apples (*Malus*). In *Genetic Resources of Temperate Fruit and Nut Crops 1*; Moore, J.N., Ballington, J.R., Eds.; Acta Horticultural Science: Wageningen, The Netherlands.

ABAZA KEÇİLERİNDE ÜREME SEZONU İÇERİSİNDE ÖSTRUS  
SENKRONİZASYONUNUN GEBELİK ORANINA ETKİSİ

THE EFFECT OF ESTRUS SYNCHRONIZATION ON PREGNANCY RATE IN ABAZA  
GOATS DURING THE BREEDING SEASON

*Mushap KURU<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> Doç. Dr., Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Kars, Türkiye

<sup>1</sup> ORCID NO: <https://orcid.org/0000-0003-4409-251X>

*Buket BOĞA KURU<sup>2</sup>*

<sup>2</sup> Dr. Öğr. Üyesi, Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootekni Anabilim Dalı, Kars, Türkiye

<sup>2</sup> ORCID NO: <https://orcid.org/0000-0002-7170-270X>

**ÖZET**

Türkiye'nin önemli genetik kaynaklarından olan Abaza keçileri, Kuzeydoğu Anadolu'da lokal olarak yetiştirilmektedir. Bu keçiler bölgenin özellikle soğuk iklim ve zorlu coğrafik koşullarına uyum sağlamışlardır. Abaza keçilerinin östrus senkronizasyonu uygulamalarına verdiği cevap ile ilgili çok fazla çalışma yapılmamıştır. Bu bildiride amaç, üreme sezonunda yaptığımız çalışmalarda Abaza keçilerinde östrus senkronizasyonu ile elde ettiğimiz gebelik oranlarının derlenmesidir. Totalde altı çalışmadaki verilerimiz kullanıldı. Çalışmalarda 2-5 yaşlı, 40-60 kg ağırlıkları arasında 185 Abaza keçisi kullanılmıştır. Üreme sezonu içerisinde östrus senkronizasyonu ve doğal östrusta elde edilen gebelik oranı sonuçları analiz edildi. Östrus senkronizasyonu amacıyla kontrollü progesteron salan aparat (CIDR) veya medroksiprogesteron asetat (MAP) içeren süngerler kullanılmıştır. İstatistiksel analizde SPSS® programı kullanıldı. MAP ve CIDR ile östrus senkronizasyonu sonrasında gebelik oranı sırasıyla %66.7 ve %50-75 (ortalama %65.5) olmuştur ( $P > 0.05$ ). Doğal östrus gebelik oranı %88.0 idi. Doğal östrusta elde edilen gebelik oranının östrus senkronizasyonuna göre istatistiksel olarak daha yüksekti ( $P = 0.025$ ). Sonuç olarak, Abaza keçilerinde üreme sezonu içerisinde CIDR veya MAP ile östrus senkronizasyonu gebelik oranı üzerine benzer etkiliydi.

**Anahtar kelimeler:** Abaza keçisi, gebelik, östrus senkronizasyonu, progesteron

**ABSTRACT**

Abaza goats, one of the important genetic resources of Türkiye, are locally grown in Northeast Anatolia. These goats have adapted to the cold climate and difficult geographical conditions of the region. There is not much research on the response of Abaza goats to estrus synchronization practices. The aim of this paper is to review the pregnancy rates obtained by estrus synchronization in Abaza goats during the breeding season. In total, data from our six studies were used. In the studies, 185 Abaza goats between the ages of 2-5 and weighing 40-60 kg were used. The results of estrus synchronization and natural estrus pregnancy rate during the reproductive season were analyzed. Controlled internal drug release (CIDR) or medroxyprogesterone acetate (MAP) sponges were used for estrus synchronization. SPSS® program was used for statistical analysis. After estrus synchronization with MAP and CIDR, the pregnancy rate was 66.7% and 50-75% (mean 65.5%), respectively ( $P > 0.05$ ). The natural estrous pregnancy rate was 88.0%. The pregnancy rate achieved in natural estrus was statistically higher than in estrus synchronization ( $P = 0.025$ ). As a result, estrus synchronization with CIDR or MAP had a similar effect on the pregnancy rate in Abaza goats during the breeding season.

**Key words:** Abaza goat, estrus synchronization, pregnancy, progesterone

## 1. GİRİŞ

Yiyecek kıtlığının yaşandığı süreçlerde keçi yetiştiriciliği önemli bir yere sahipti ve o yıllarda keçilere “yoksul adamın ineği” denilmekteydi. Keçi, kırsal ve yoksul kesimin yapmış oldukları geleneksel yetiştirme yöntemlerinde bile yetiştiricilere gelir kaynağı olmuştur (Luo vd., 2019). Keçilerin; et üretimi, kaşmir ve tiftik lifi üretimi, süt ile peynir üretimi ve deri yapımı olmak üzere çeşitli amaçlarla yetiştiriciliği yapılmaktadır. Keçi et üretimi özellikle Asya, Afrika, Orta Doğu ve Latin Amerika'da oldukça önemlidir ve dünya keçi eti üretimi 1980 ile 2000 yılları arasında iki kattan fazla artış göstermiştir (Kaymakçı, 2013; Sejian vd., 2021; Smith & Sherman, 2009).

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü'nün (FAO) evcil hayvan çeşitliliği envanteri veri tabanında (FAO, 2009) 1.153'ten fazla keçi türü listelenmiştir. FAO'ya göre, dünyada 850 milyondan fazla keçi bulunmaktadır ve bunların %95'inden fazlası gelişmekte olan ülkelerdedir. Avrupa, keçi genetik kaynağı bakımından en geniş bölgedir (%33), ancak dünya keçi popülasyonunun yalnızca %4'ünü oluşturur. Gelişmiş ülkelerdeki keçilerin yaklaşık %31'i sütçü keçi olup, bu oran gelişmekte olan ülkelerde sadece %19'dur. Bu nedenle, dünya çapında çoğu keçi yetiştiriciliği öncelikle et ihtiyacını gidermek için yapılmaktadır (Solaiman, 2010).

Tüm keçiler, ırkları ne olursa olsun, büyüyecekleri ve performans gösterecekleri ortama kolayca uyum sağlayabilirler. Fakat bu uyum için belirli bir zaman diliminin geçmesi gerekebilir. Sıcak ve kurak mevsimin yaşandığı iklimdeki keçiler yağışlı ve nemli bölgelere getirdiklerinde çevre koşullarından dolayı performans düşüklüğü yaşabilmektedirler. Fakat çevresel uyumluluk melezleme ve seleksiyon programlarıyla arttırılabilmektedir (Pugh & Baird, 2012; Radostits vd., 2017; Sejian vd., 2021; Solaiman, 2010).

Türkiye'de pek çok keçi ırkı mevcuttur. Bununla birlikte sadece ülkemize özgü lokal ırklarda bulunmaktadır. Değişen hayvancılık politikalarının ve yetiştirici eğilimlerinin keçi yetiştiriciliği üzerine maalesef olumsuz etkileri olmuştur. Bunun en iyi göstergelerinden birisi de keçi haricindeki diğer çiftlik hayvanlarındaki sayı artışıyla paralel olarak keçi sayısında artışın olmayışıdır. Günümüzde birçok keçi ırkı kaybolmuş veya kaybolmaya yüz tutmuştur (Kuru & Boğa Kuru, 2020). Bunlardan birisi de Abaza keçisidir (Şekil 1). Halk elinde yetiştirme programları dahilinde koruma altına alınarak tamamen yok olmasının önüne geçilmeye çalışılmaktadır (Kuru, Boğa Kuru, vd., 2017). Abaza keçisi Kuzeydoğu Anadolu bölgesinde yetiştiriciliği yapılmaktadır. Vücut, ağız çevresi, gözler ve bacaklarda renkli işaretler bulunan pembe-beyaz kıllarla kaplıdır. Tekelerin uzun ve düz boynuzları vardır. Keçiler boynuzlu veya boynuzsuz olabilmektedir. Meme sistemi iyi gelişmiştir. Ortalama laktasyon süt verimi 200 kg civarındadır (Batu, 1951; Kuru, Boğa Kuru, vd., 2016, 2017; Sezgin vd., 2010; Yalçın, 1986). Keçilerin ortalama östrus süresinin  $25.5 \pm 2.9$  saat ve gebelik süresinin  $152.56 \pm 3.55$  gün olarak belirlenmiştir. Yine doğumların çoğu 06.00-12.00 (%75) saatleri arasında gerçekleşmektedir (Kuru, Boğa Kuru, vd., 2016).



Şekil 1. Abaza keçileri (Kuru, Boğa Kuru, vd., 2016)

Sert iklim şartlarına sahip Kuzeydoğu Anadolu bölgesinde, yetiştiriciliği yapılan Abaza keçilerinde progesteron destekli östrus senkronizasyonunun üretime olumlu katkıda bulunduğu ve ikizliği arttırdığı bildirilmiştir. Bununla birlikte üreme sezonunda Abaza keçilerinde pek fazla reproduktif sorun

görülmemiştir. Üreme sezonu içerisinde doğal östrusta çiftleştirildiklerinde ikiz doğumların tekiz doğumlara oranla daha az olduğu belirlenmiştir (Kuru, Boğa Kuru, vd., 2017)

Keçilerin reproduktif kapasitesi, et, süt ve tiftik keçileri için en önemli üretim özelliklerinden biridir. Yüksek gebe kalma, yavrulama ve süttan kesme oranları büyük önem taşımaktadır. Her gebelikte daha fazla oğlak doğuran dişiler daha üretkendir. Keçiler genellikle bireysel olarak yönetilmediğinden sürünün toplam üreme performansı önemlidir (Harwood & Mueller, 2018; Pugh & Baird, 2012; Smith & Sherman, 2009; Solaiman, 2010). Ilman bölgelerdeki keçi ırkları yalnızca mevsimsel olarak üreme eğilimindedir (mevsimsel poliöstrik) ve üreme mevsimi Kuzey Yarımküre'de Temmuz/Ağustos ile Kasım/Aralık arasındadır. Buna karşılık, tropik bölgelerden keçi ırkları veya etçi ırk keçiler genellikle yıl boyunca östrus gösterip gebe kalabilirler (Habeeb & Anne Kutzler, 2021; Kaçar vd., 2016; Pugh & Baird, 2012; Radostits vd., 2017; Solaiman, 2010).

Keçiler, günlerin kısalmaya başladığında kızgınlık göstermeye başlayan hayvanlar olarak kabul edilir çünkü üreme mevsimleri, gündüzün uzunluğuna veya daha spesifik olarak, karakteristik değişikliklerin başlangıcıyla ilişkili artan karanlık saatleriyle gecenin süresine göre düzenlenir. Sadece ışık süresi ve zamanlaması östrus oluşumunu etkilemekle kalmaz, aynı zamanda kısa gün ışığı rejimleri de üreme mevsiminin uzunluğunu etkileyebilir. Mevsimsellik, epifiz bezine iletilen ışığın görsel algısı tarafından kontrol edilir. Epifiz bezi melatonin üretir ve gece boyunca salgılar. Melatonin sekresyonundaki değişiklik, gonadotropin salgılatıcı hormonun (GnRH) puls sıklığında artışa neden olur. Hipotalamus östrojene karşı (gelişmekte olan foliküllerden) kesinlikle olumsuz bir geri bildirim yanıtından, artan östrojen konsantrasyonlarından kaynaklanan olumlu bir geri bildirim kadar duyarlılığını değiştirir. Artan GnRH pulsları, üreme mevsimi boyunca östrusun indüklenmesinden sorumludur. Mevsimsel olarak üreyen hayvanlarda, anöstrustan mevsimsel döngüye yıllık geçişte gözlemlendiği gibi ergenlik döneminde de benzer bir senaryo ortaya çıkar. Mevsimin sona ermesiyle birlikte herhangi bir östrus davranışı gözlenmemektedir (Habeeb & Anne Kutzler, 2021; Harwood & Mueller, 2018; Kaçar vd., 2016; Pugh & Baird, 2012; Smith & Sherman, 2009).

Küçük ruminantlarda östrus senkronizasyonu ya eksojen progesteron sağlayarak ya da erken luteolizi indükleyerek östrus siklusunun luteal fazının kontrolü ile sağlanır. İkinci yaklaşım, mevsimsel anöstrus sırasında uygulanamazken, gonadotropin ile kombinasyon halinde eksojen progesteron, anöstrus dönemindeki dişilerde östrusun indüklenmesi ve senkronize edilmesi için kullanılabilir. Keçilerde ve koyunlarda östrus senkronizasyonu için tercih edilen geleneksel ürün, 9 ile 14 gün boyunca progestagen (florogeston asetat gibi) emdirilmiş intravaginal sünger ve ardından süngerin çıkarılmasından 48 saat önce veya süngerin çıkarıldığı gün enjekte edilen gebe kısırak gonadatropini'dir (PMSG)(Kuru, 2022a, 2022b; Kuru, Kükürt, vd., 2018; Kuru, Sogukpınar, vd., 2017; Kuru vd., 2020; Wildeus, 2000). Fakat progesteron uygulama süresinin 9 günden daha kısa uygulanabileceğini ifade eden çalışmalarda mevcuttur (Kuru, Boga Kuru, vd., 2022; Kuru, Demir, vd., 2022; Kuru vd., 2019). Alternatif progesteron/progestagen seçenekleri, doğal progesteron, norgestomet implantları ve oral olarak melengestrol asetat, kontrollü dahili ilaç salan (CIDR) aparatları olmuştur (Kuru, 2022a; Kuru, Kükürt, vd., 2018; Wildeus, 2000).

Bu bildiride amaç, Abaza keçilerinde progesteron destekli östrus senkronizasyonu yapılarak veya doğal östrusta takip edilerek yapılmış çalışmalardan elde edilen gebelik oranlarının derlenmesidir.

## 2. MATERYAL VE METOT

Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi bünyesinde bulunan Eğitim, Araştırma ve Uygulama Çiftliğine bir TÜBİTAK projesi kapsamında Abaza keçileri getirilmiştir. Bu süreçten sonra Abaza keçileri ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Abaza keçilerinde üreme özelliklerinin belirlenmesine yönelik yapılan çalışmaların ilk bildirimleri 2016 yılında olmuştur. Bu bildiride Abaza keçileriyle yaptığımız 6 çalışmada elde edilen gebelik oranı verileri sentezlenmiştir.

Çalışmalarda 2-5 yaşlı, 40-60 kg ağırlıkları arasında, klinik olarak sağlıklı 185 Abaza keçisi kullanılmıştır. Çalışmaların beşi üreme sezonu içerisinde (Eylül-Kasım ayları arasında) östrus senkronizasyonu ve biri ise çiftleşme sezonunda herhangi bir senkronizasyon yapılmadan doğal östruslar takip edilerek yapılmıştır. Östrus senkronizasyonu amacıyla CIDR veya medroksiprogesteron asetat içeren süngerler kullanılmıştır.

Abaza keçilerine CIDR (Eazi-Breed CIDR<sup>®</sup>, Zoetis, Türkiye) veya medroksiprogesteron asetat içeren süngerler (60 mg, Esponjavet<sup>®</sup>, Hipra, Türkiye) intravaginal olarak yerleştirilmiş ve 11 gün boyunca vaginada bırakılmıştır. Dokuzuncu gün 400 IU PMSG (i.m., Chronogest<sup>®</sup>, MSD-İntervet, Türkiye) ve 5 mg dinoprost trometamin (i.m., Dinolytic<sup>®</sup>, Zoetis, Türkiye) enjekte edilmiştir. Progesteron uygulaması bittikten sonra teke katımı yapılarak kontrollü çiftleştirme yapılmıştır. Çiftleşmeden 30 gün sonra gebelik tanısı 5-7.5 MHz lineer problu transrektal ultrasonografi ile yapılmıştır.

Çalışmalarda verilerin istatistiksel analizi SPSS<sup>®</sup> (Versiyon 26.0, SPSS Inc./IBM Grup, Chicago, IL, USA) programı ile yapılmıştır. Çalışmalarda elde edilmiş gebelik oranlarının ikili karşılaştırılmasında Chi square testi kullanıldı. Analiz sonuçlarında  $P < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

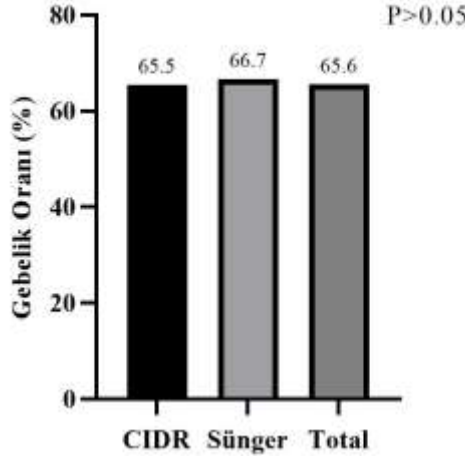
### 3. BULGULAR

Abaza keçilerinde yapılan çalışmalar, kullanılan senkronizasyon protokolü, kullanılan hayvan sayısı ve gebelik oranı Tablo 1’de verilmiştir. İncelenen çalışmalarda (Kuru, Boğa Kuru, vd., 2017; Kuru, Kükürt, vd., 2016; Kuru, Merhan, vd., 2016; Kuru, Oral, vd., 2018; Kuru, Öğün, vd., 2016, 2018) Abaza keçilerinin üreme mevsimi içerisinde progesteron destekli yapılan senkronizasyon protokollerinde %50-75 oranı arasında gebelik tespit edilmiştir.

**Tablo 1.** Üreme sezonu içerisinde Abaza keçilerinde yapılmış farklı çalışmalardan elde edilen gebelik oranları.

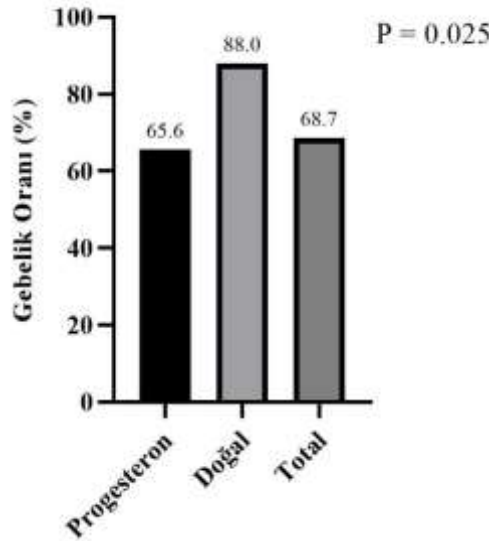
Protokol	Gebe/Total	Gebelik oranı (%)	Kaynakça
11 gün MAP + 9. gün PGF <sub>2α</sub> ve eCG	10 / 15	66.7	(Kuru, Oral, vd., 2018)
11 gün CIDR + 9. gün PGF <sub>2α</sub> ve eCG	30 / 40	75.0	(Kuru, Öğün, vd., 2018)
11 gün CIDR + 9. gün PGF <sub>2α</sub> ve eCG	11 / 15	73.3	(Kuru, Boğa Kuru, vd., 2017)
11 gün CIDR + 9. gün PGF <sub>2α</sub> ve eCG	20 / 40	50.0	(Kuru, Öğün, vd., 2016)
11 gün CIDR + 9. gün PGF <sub>2α</sub> ve eCG	20 / 30	66.7	(Kuru, Kükürt, vd., 2016)
11 gün CIDR + 9. gün PGF <sub>2α</sub> ve eCG	14 / 20	70.0	(Kuru, Merhan, vd., 2016)
Doğal östrus	22 / 25	88.0	(Kuru, Boğa Kuru, vd., 2017)

Üreme mevsimi içerisinde Abaza keçilerinde progesteron kaynağı olarak CIDR veya medroksiprogesteron asetat içeren sünger kullanılmasıyla elde edilen gebelik oranının sırasıyla %65.5 ve %66.7 olduğu belirlendi ( $P > 0.05$ ). Bununla birlikte üreme sezonu içerisinde progesteron destekli östrus senkronizasyonu ile Abaza keçilerinde ortalama gebelik oranı %65.6 olarak tespit edilmiştir (Şekil 2).



**Şekil 2.** Üreme mevsimi içerisinde progesteron kaynağı olarak CIDR (n = 145) veya sünger (n = 15) kullanımı sonrası elde edilen gebelik oranları.

Abaza keçilerinde üreme mevsimi içerisinde progesteron destekli östrus senkronizasyonu ile %65.6, östrus takibi yaparak doğal östrusta çiftleştirilerek %88.0 oranında gebelik elde edilmiştir. Beklenildiği üzere östrus senkronizasyonuna göre doğal östrus sonrası elde edilen gebelik oranı istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur (P = 0.025). Yine östrus senkronizasyonu ve doğal östrusta çiftleştirme sonrasında elde edilen genel gebelik oranı ise %68.7 olarak belirlenmiştir. Bu değer Abaza keçilerinde ilk östrus sonrası elde edilen gebelik oranını işaret etmektedir. Yaptığımız bir çalışmada da Abaza keçilerinin üreme sezonu içerisinde %95 oranında gebe kalabildiği belirlenmiştir (Kuru, Boğa Kuru, vd., 2017).



**Şekil 3.** Üreme mevsimi içerisinde Abaza keçilerinde progesteron destekli östrus senkronizasyonu (n = 160) ve doğal östrusta (n = 25) çiftleştirildikten sonra elde edilen gebelik oranları (P = 0.025). Bununla birlikte sezon içerisinde hem östrus senkronizasyonu hem de doğal çiftleşmede ilk östrus sonrası elde edilen gebelik oranı (Total).

#### 4. SONUÇ

Sonuç olarak, Kafkaslarda yetiştiriciliği yapılan Abaza keçileri bölgenin zorlu iklim ve coğrafi şartlarına uyum sağlamış ender lokal ırklarımızdan biridir. Abaza keçileri ile yaptığımız çalışmalarda hormonal manipülasyon sonrası östrusların uyarıldığı ve toplu şekilde gebe kalmaları sağlanabildiği görülmüştür. Östrus senkronizasyonu amacıyla hem CIDR hem de medroksiprogesteron asetat içeren sünger kullanılması gebelik oranı üzerine benzer etkiliydi. Abaza keçilerinin üreme sezonu içerisinde

progesteron destekli östrus senkronizasyonu ile doğumların toplulaştırması ve bir örnek oğlak doğumu gerçekleştirilebilir. Bu sayede hem kısa sürede sürünün gebe kalması hem de doğacak oğlakların daha rahat sevk ve idaresi sağlanabilir.

## 5. KAYNAKÇA

Batu, S. (1951). *Türkiye Keçi Irkları*. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, Ankara, Türkiye.

Habeeb, H. M. H., & Anne Kutzler, M. (2021). Estrus synchronization in the sheep and goat. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 37(1), 125-137. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2020.10.007>

Harwood, D., & Mueller, K. (2018). *Goat Medicine and Surgery*. CRC Press Taylor & Francis Group. <https://doi.org/https://doi.org/10.4324/9781315152233>

Kaçar, C., Kaya, S., Kuru, M., & Zonturlu, A. K. (2016). Koyun ve keçilerde üremenin denetlenmesinde güncel yöntemler. *Türkiye Klinikleri Veterinary Sciences-Obstetrics and Gynecology - Special Topics*, 2(1), 29-37.

Kaymakçı, M. (2013). *İleri Keçi Yetiştiriciliği*. Meta Basım Matbaacılık, İzmir, Türkiye.

Kuru, M. (2022a). Estrus synchronization in Gurcu goats during the breeding season: The effect of controlled internal drug release or vaginal sponge on pregnancy rate. *Cumhuriyet 7th International Congress on Applied Sciences*, 3-8.

Kuru, M. (2022b). The effect of progesterone-based estrus synchronization on pregnancy rate during the breeding or non-breeding season in Gurcu goats. *Akdeniz 8th International Conference on Applied Sciences*, 212-219.

Kuru, M., Boga Kuru, B., Kacar, C., Demir, M. C., & Cetin, N. (2022). Effect of oestrus synchronization with different lengths of progesterone-impregnated sponges and equine chorionic gonadotropin on reproductive efficiency in Romanov ewes during the non-breeding season. *Acta Veterinaria Brno*, 91(3), 243-250. <https://doi.org/10.2754/avb202291030243>

Kuru, M., Boga Kuru, B., Sogukpinar, O., Cebi Sen, C., Oral, H., & Kirmizibayrak, T. (2020). Oestrus synchronisation with progesterone-containing sponge and equine chorionic gonadotropin in Pirlak ewes during the non-breeding season: can Toryum improve fertility parameters? *Journal of Veterinary Research*, 64(4), 573-579. <https://doi.org/10.2478/jvetres-2020-0074>

Kuru, M., & Boğa Kuru, B. (2020). Kars ve yöresinde kaybolmaya yüz tutan lokal bir ırk: Gürcü keçisi. İçinde P. Ayvazoğlu Demir (Ed.), *Kuzey Doğu Anadolu Bölgesinde Hayvancılık* (ss. 75-111). Iksad Publishing House.

Kuru, M., Boğa Kuru, B., Kulaksız, R., Arı, U. Ç., & Oral, H. (2017). Abaza keçilerinde progesteron destekli östrus senkronizasyonunun bazı reproduktif parametrelere etkileri. *Kocatepe Veterinary Journal*, 10(3), 164-171. <https://doi.org/10.5578/kvj.57526>

Kuru, M., Boğa Kuru, B., Kulaksız, R., & Oral, H. (2016). Abaza keçilerinin bazı reproduktif özellikleri. *VI. Ulusal Veteriner Zootekni Kongresi*, 113-114.

Kuru, M., Demir, M., Kaçar, C., Boğa Kuru, B., Kaya, S., Kumcu, M., Karadağ, M., Kaya, D., & Oral, H. (2022). Gürcü keçilerinde üreme sezonu içinde yedi veya on bir gün progesteron emdirilmiş intravaginal sünger tedavisinin bazı fertilité parametrelerine etkisi. *Türk Veteriner Jinekoloji Derneği IX. Ulusal & III. Uluslararası Kongresi*, 244-245.

Kuru, M., Kaçar, C., Demir, M. C., Kaya, S., Kaya, D., & Oral, H. (2019). The effect of the use of short-term or long-term progesterone impregnated intravaginal sponge on the pregnancy rate in lactating Gurcu goats outside of the breeding season. *II. International Congress of Turkish Society of Veterinary Gynaecology*, 305-306.



- Kuru, M., Kükürt, A., Kulaksız, R., Oral, H., Çetin, N., & Karapehlivan, M. (2016). Controlled internal drug release use for synchronization on paraoxonase activities and total sialic acid levels in Abasian goats. *Journal of Cellular Neuroscience and Oxidative Stress*, 8, 544.
- Kuru, M., Kükürt, A., Oral, H., & Öğün, M. (2018). Clinical use of progesterone and its relation to oxidative stress in ruminants. İçinde G. Drevensek (Ed.), *Sex Hormones in Neurodegenerative Processes and Diseases* (ss. 303-327). <https://doi.org/10.5772/intechopen.73311>
- Kuru, M., Merhan, O., Erkılıç, E. E., Kükürt, A., Oral, H., & Kulaksız, R. (2016). Abaza keçilerinde gebelik öncesi, gebelik ve gebelik sonrası dönemde bazı akut faz ve oksidatif stres parametreleri ile metabolik profilin belirlenmesi. *Kafkas Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü Proje Sonuç Raporu*.
- Kuru, M., Oral, H., & Kulaksız, R. (2018). Determination of gestational age by measuring defined embryonic and foetal indices with ultrasonography in Abaza and Gurcu goats. *Acta Veterinaria Brno*, 87(4), 357-362. <https://doi.org/10.2754/avb201887040357>
- Kuru, M., Öğün, M., Kulaksız, R., Kükürt, A., & Oral, H. (2018). Comparison of oxidative/nitrosative stress, leptin and progesterone concentrations in pregnant and non-pregnant Abaza goats synchronized with controlled internal drug release application. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 24(6), 887-892. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2018.20222>
- Kuru, M., Öğün, M., Oral, H., Kükürt, A., Erkılıç, E. E., & Kulaksız, R. (2016). Synchronization with controlled internal drug release (CIDR) on exacerbate oxidative and nitrosative stress and leptin levels in Abasian goats. *12th International Conference on Goats*, 191-191.
- Kuru, M., Sogukpinar, O., Makav, M., & Cetin, N. (2017). Effect of barium selenate injections on fertility of Pirlak ewes subjected to estrus synchronization during non-breeding season. *Medycyna Weterynaryjna*, 73(8), 479-482. <https://doi.org/10.21521/mw.5758>
- Luo, J., Wang, W., & Sun, S. (2019). Research advances in reproduction for dairy goats. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 32(8), 1284. <https://doi.org/10.5713/AJAS.19.0486>
- Pugh, D. G., & Baird, A. N. (2012). Sheep and Goat Medicine. İçinde *Sheep & Goat Medicine* (2nd bs). Saunders, Elsevier.
- Radostits, O. M., Gay, C. C., Hinchcliff, K. W., & Constable, P. D. (2017). *Veterinary Medicine: A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs, and Goats* (Eleventh E). Elsevier.
- Sejian, V., Silpa, M. v., Reshma Nair, M. R., Devaraj, C., Krishnan, G., Bagath, M., Chauhan, S. S., Suganthi, R. U., Fonseca, V. F. C., König, S., Gaughan, J. B., Dunshea, F. R., & Bhatta, R. (2021). Heat Stress and Goat Welfare: Adaptation and Production Considerations. *Animals 2021*, Vol. 11, Page 1021, 11(4), 1021. <https://doi.org/10.3390/ANI11041021>
- Sezgin, E., Kopuzlu, S., & Yüksel, S. (2010). Abaza keçisi. *Ulusal Keçicilik Kongresi*, 241-244.
- Smith, M. C., & Sherman, D. M. (2009). Goat Medicine. İçinde *Goat Medicine: Second Edition* (2nd Editio). Blackwell Publishing. <https://doi.org/10.1002/9780813818825>
- Solaiman, S. G. (2010). *Goat Science and Production*. Wiley-Blackwell Publishing, A John Wiley & Sons, Inc., Publication. <https://www.wiley.com/en-us/Goat+Science+and+Production-p-9780813820620>
- Wildeus, S. (2000). Current concepts in synchronization of estrus: Sheep and goats. *Journal of Animal Science*, 77(E-Suppl), 1. <https://doi.org/10.2527/jas2000.00218812007700es0040x>
- Yalçın, B. C. (1986). *Sheep and Goats in Turkey*. Food and Agriculture Animal Production and Health Paper, Roma, İtalya. <https://www.fao.org/3/ah224e/ah224e00.htm>

**BIOACTIVE PROPERTIES OF TARRAGON (*Artemisia dracunculus* L.) EXTRACT AND ESSENTIAL OIL**

**Buse DURMAZ**

*Ege University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department, Izmir, Turkey*

ORCID ID: 0000-0003-3065-3865

**Gülten TIRYAKI GÜNDÜZ**

*Ege University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department, Izmir, Turkey*

ORCID ID: 0000-0002-5878-7411

**ABSTRACT**

Tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) is an aromatic, perennial and bush-type plant which is used to give flavor to foods like meat, salads, marinades, soups, yoghurts etc. In this study, the antimicrobial and antioxidant activities, total phenolic content and synergistic effect of tarragon extracts and essential oil were investigated. *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Salmonella* Typhimurium ATCC 13311, *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 43895 and *Saccharomyces cerevisiae* NRRL Y-12632 were used as test cultures. Minimum inhibitory concentrations (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of essential oil, water and ethanol extracts against three pathogen bacteria were 20.75-41.50 mg/mL, 25.00 mg/mL and 2.01-8.04 mg/mL, respectively. While MIC and minimum fungicidal concentration (MFC) of essential oil against yeast were 0.31% (v/v); only MIC value was found in ethanol extract (2.12 mg/mL). According to the disc diffusion method, only tarragon essential oil showed antimicrobial activity. In the DPPH assay, ethanol extract had the highest antioxidant activity (31.78%), while the lowest antioxidant activity was found in essential oil (3.20%). Similar to the antioxidant activity result, the highest total phenolic content was detected in the ethanol extract (126.92 mg GAE/g). Synergistic effects of tarragon ethanol extract with sour orange juice were investigated using the checkerboard method. The results indicated that the use of ethanol extract with sour orange juice were decreased the MIC values and had partial synergy or additive effects on three pathogen bacteria. Thus, it has been demonstrated that tarragon ethanol extract has an antimicrobial effect at lower concentrations when combined with sour orange juice. As a result, tarragon essential oil and extracts have potential to be used as natural antioxidant and antimicrobial agents in foods.

**Keywords:** tarragon, essential oil, extract, antimicrobial, antioxidant, synergistic effect

**1. INTRODUCTION**

Foodborne diseases related to the consumption of food contaminated with pathogenic microorganisms are increasing (Shan et al., 2019). The World Health Organization reports that 7.7% of individuals around the globe get foodborne diseases annually (Yu et al., 2021). Synthetic preservatives are widely used in the food industry to ensure food safety (Yu et al., 2021; Wu et al., 2022). On the other hand, synthetic preservatives can cause serious health problems such as cancer, allergies, asthma, etc. (Nasrollahzadeh et al., 2022). The adverse effects of synthetic chemicals on human health and environment are driving up natural antibacterial substances demand (Lucera et al., 2012). Studies are underway to investigate the potential of using plant essential oils and extracts as natural antibacterial agents in foods (Shan et al., 2009; Aziz and Karboune, 2018; Christaki et al., 2021; Gunasena et al., 2022).

Essential oil and extracts are obtained from leaves, flowers, seeds, bark, root, etc. parts of plant materials, and they are used for various purposes in many fields (pharmacology, cosmetics, medicine, food industry etc.) (Cordery et al., 2018). Essential oil/extracts are generally characterized by the presence of two or three main components (Bakkali et al., 2008). The American Food and Drug

Administration has classified several plant essential oils as Generally Recognized as Safe (GRAS) as flavor, fragrance, and food additives (Bayaz, 2014). The main disadvantage of using essential oil and extracts in food at high concentrations can cause undesirable changes in sensory properties. For this reason, it is an important issue to determine the appropriate concentrations for the products to have high sensory acceptability (Beristain-Bauza et al., 2019).

Tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) is an aromatic, perennial and bush-type plant which belongs to the *Asteraceae* family (Kordali et al., 2005; Kutlu et al., 2022). The stem height of tarragon usually varies between 40-150 cm, the leaves are 1.2-8.0 cm and the width is between 1-6 mm (Obolskiy et al., 2011; Behbahani et al., 2017). Fresh and dried tarragon is used in salads, meats, marinades, soups, yogurts, etc. (Azizkhani et al., 2021). Besides giving flavor to foods, it is used traditionally for the treatment of rheumatism, nausea, redness, and swelling in the joints (Ayoughi et al., 2011; Obolskiy et al., 2011). Tarragon essential oil consists of estragole, osimen, sabinene, elemicin, limonene as major components (Pappas and Sturtz, 2001; Chauhan et al., 2010; Chaleshtori et al., 2013; Ekiert et al., 2021). Tarragon essential oil/extracts are known to have antimicrobial, antioxidant, antidiabetic and anti-inflammatory due to their bioactive properties (Obolskiy et al., 2011). The aim of this study was to investigate the total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activity of tarragon essential oil and extracts *in vitro* conditions.

## 2. MATERIALS and METHODS

### 2.1 Microbial Culture and Inoculum Preparation

*Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Salmonella* Typhimurium ATCC 13311, *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 43895 and *Saccharomyces cerevisiae* NRRL Y-12632 test cultures were obtained from Ege University, Food Microbiology Laboratory. Cultures were activated twice in Trypticase Soy Broth (TSB, pH 7.3, Condalab, Spain) containing antibiotics. While 50 parts per million (ppm) nalidixic acid ( $\geq 98$ , Sigma-Aldrich, USA) was added to TSB for *S. Typhimurium* and *E. coli* O157:H7; 50 ppm rifampicin ( $>95$ , Duchefa Bochemie, Holland) was used for *S. aureus* and cultures were incubated at 37 °C for 24 hours. Malt Extract Broth (MEB, pH 4.8, Merck, Germany) was used for the cultivation of yeast at 30 °C for 2 days (Zanet et al., 2019). After the incubation periods, the test cultures were washed in the 0.1% (w/v) peptone water (PW, pH 7.2, Oxoid, UK) for two times at 20 °C by centrifugation (4000×g, 10 min). After the second washing, the PW was removed, and 2-3 mL of PW was added to the cultures and the density of cultures was adjusted to 0.5 McFarland standard ( $10^7$  CFU/mL) by using DEN-1 McFarland Densitometer (Grantbio). Appropriate dilutions were prepared from the culture suspensions and microbiological analysis were performed to confirm the number of microorganisms in the culture suspensions (Gündüz et al., 2019).

### 2.2 Preparation of Essential Oil

Tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) essential oil produced by using steam distillation method was obtained from Sheer Essence Lifestyle Products Ltd. Sti (New Delhi, India). The chemical composition of the essential oil was determined by gas chromatography, and it was reported by the company that the major compound of tarragon essential oil is eugenol 71.75%. Tarragon essential oil was prepared in 10% DMSO (v/v) ( $\geq 99.5$ , Carl Roth, Germany) that contained 50  $\mu$ L Tween 80 (For Synthesis, Merck, Germany). Then, the essential oil was kept in an ultrasonic water bath (Bandelin, Sonorex Super RK106, 35kHz) for 15 min and stored in sterile dark-colored vials at +4 °C (Qader et al., 2017).

### 2.3 Preparation of Water and Ethanolic Extracts

Tarragon plant (dried) obtained from a spice market in Izmir, and ground with a rondo (Touch me, Turkey). For the preparation of ethanol and water extracts; 10 grams of tarragon was added to 100 mL  $\geq 99.9\%$  pure ethanol (Absolute for Analysis, Merck, Germany) or distilled water and it was kept at 25 °C for 24 h in dark conditions. After 24 h, the mixture was ultrasonicated by using ultrasonic water bath (Bandelin, Sonorex Super RK106, 35kHz, 120-200 W, 25 °C) for 15 min, then the extracts were filtered using Whatman No.4. After the filtration, a rotary evaporator (HEIDOLPH, 900 mbar, 45 °C) was used to remove ethanol for ethanol extracts. After the evaporation process, the required concentration was prepared with distilled water that contained 1-3 mL Tween80. Membrane filtration (0.45  $\mu$ m) was used to sterile the ethanol extract and stored in sterile dark-colored vials at +4 °C. For the water extracts, after

filtration by using Whatman No.4, the water extract was lyophilized at  $-47/48$  °C. After the lyophilization process, appropriate concentrations were prepared with distilled water, then passed through  $0.45$  µm syringe filters (ISOLAB CA Syringe Filter) and stored in sterile brown vials at  $+4$  °C (Behbahani et al., 2017).

#### 2.4 Preparation of Sour Orange Juice

Sour oranges (*Citrus aurantium*, L.), obtained from Urla/Izmir, were washed with tap water and peeled by using a stainless-steel knife. After squeezing with a manual citrus juicer, the citrus juice was filtered through a strainer to remove the pulp and seeds. The obtained citrus juice was stored at  $-18$  °C (Hashemi et al., 2017; Var et al., 2021).

#### 2.5 Determination of Antimicrobial Activity

In this study, the antimicrobial activity of tarragon essential oil and extracts were investigated by disc diffusion and microdilution methods. In disc diffusion and microdilution methods, *S. aureus* ATCC 6538P, *S. Typhimurium* ATCC 13311, *E. coli* O157:H7 ATCC 43895 and *S. cerevisiae* NRRL Y-12632 test cultures were used.

##### 2.5.1 Disk diffusion method

$100$  µL ( $10^7$  CFU/mL) of culture suspensions inoculated to Mueller-Hinton Agar (MHA, pH 7.4, Merck, Germany) for bacteria and Potato Dextrose Agar (PDA, pH 5.6, Merck, Germany) for yeast by using the spread plate method. Sterile 6 mm diameter paper disc was put in the inoculated plates, then  $30$  µL essential oil/extracts were added over the sterile disc. After keeping the Petri dishes at room temperature for 10-15 min, Petri dishes were incubated at  $37$  °C for 24 hours for bacteria and at  $30$  °C for 48 hours for yeast. Inhibition zone diameter was measured in mm (Moghaddam et al., 2011).

##### 2.5.2 Determination of minimum inhibition concentration (MIC) of essential oil and extracts

MIC of essential oil and extracts against bacteria were determined by broth microdilution method using sterile 96-well microplates. Dilutions were made from the first well to the 11th well, and the liquid was discarded without dilution in the 12th well. Thus, it is aimed that only the medium and culture suspension remains in the 12th well and the growth in these wells is observed. After dilution, a  $100$  µL culture suspension ( $10^7$  CFU/mL) was inoculated to each well and the microplates were incubated at  $37$ °C for 24 h. After 24 h,  $20$  µL of 2,3,5-Triphenyltetrazolium chloride (TTC) (1% (v/v), Merck, Germany) was added to all wells and kept in the incubator for 30 min. After 30 min, the wells with the lowest plant material concentration without any color change was determined as MIC value (Peng et al., 2018).

MIC values for *S. cerevisiae* were determined using optical densities (OD) that measured at 600 nm in the Thermo Scientific Multiskan Sky Microplate reader at the beginning and after 48 h of incubation period (Hu et al., 2012). Peptone water was added instead of the culture suspensions as a control. After 48 h, OD values were compared between the control and 48 h, and the well in which the different OD value was determined from the control wells was determined as the MIC.  $10$  µL of resazurin (0.01% w/v, Alfa Aesar) was added to the microplates and incubated at  $30$  °C for 3 h, in order to compare the MIC values determined with the OD results obtained (Narangerel et al., 2021).

##### 2.5.3 Determination of minimum bactericidal (MBC) and minimum fungicidal concentration (MFC) of essential oil and extracts

Minimum bactericidal (MBC) concentrations were determined by inoculating  $10$  µL of inoculum from each well in which no color change observed onto MHA plates and incubated at  $37$ °C for 24 h (Bertella et al., 2018). At the end of the incubation, MBC was defined as the concentration that ensures  $>3$  log microbial reduction (Thwaites et al., 2018). For yeast, after measuring the OD values,  $10$  µL of inoculum was taken from each well of the microplates and inoculated into PDA petri dishes. After the incubation period of 2 days at  $30$ °C, the lowest concentration without growth was determined as MFC (Hu et al., 2012).

#### 2.6 Determination of the synergistic effect of tarragon with sour orange juice

Synergistic effects of tarragon ethanol extract with sour orange juice were investigated by using checkerboard method (Bal, 1999; Gutierrez et al., 2008). While adding ethanol extract to the first row of the microplate; sour orange juice was added to the first column. Ethanol extract and sour orange juice were prepared 2xMIC concentration and 50  $\mu$ L was added to each well. The extract was diluted from 2xMIC to MIC/512, citrus juice from 2xMIC to MIC/32. Each concentration was prepared in sterile MHB. Thus, it was ensured that there was a total of 100 ml in the middle wells. Culture suspension adjusted to 0.5 McFarland ( $10^7$  CFU/mL) was inoculated to 50  $\mu$ L for the first rows and columns, and 100  $\mu$ L to the middle wells. The first row and columns were used only to determine the MIC values of the active substance alone. After inoculation, the microplates were incubated for 24 h at 37°C. Then, 20  $\mu$ L of TTC (1%) was added to microplates and incubated for 30 min. As a result of the synergistic effect, the fractional inhibitory concentration index (FICI) was expressed as FIC<sub>a</sub>+FIC<sub>b</sub> in the wells that there was no color change. MIC<sub>a</sub> and MIC<sub>b</sub> are defined: MIC value of substance a in combination/ MIC<sub>a</sub> alone and MIC value of substance b in combination/MIC<sub>b</sub> alone. There are five results of this antimicrobial activity obtained by FICI result: synergistic effect ( $\leq 0.5$ ), partial synergy (0.5 - 0.75), additive effect (0.76 - 1.0), indifference effect ( $>1 - 4$ ) and antagonistic effect ( $> 4$ ) (Mun et al., 2013; Draper et al., 2013).

## 2.7 Determination of Antioxidant Activity and Total Phenolic Content (TPC)

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) was used for determination the antioxidant activity of essential oil/extracts. DPPH (0.004%, w/v) was prepared in 99.9% pure methanol (Merck, Germany). 100  $\mu$ L tarragon essential oil/extracts were added to 5 mL of DPPH solution, and kept in a dark for 30 min. Then, the absorbance was measured at 517 nm using the spectrophotometer against a blank. The result was given as %DPPH inhibition (Serce et al., 2010).

Folin-Ciocalteu colorimetric method was used to determine the total phenolic contents of essential oil/extracts and the result was expressed as mg gallic acid equivalents/mL. Firstly, 100  $\mu$ L of essential oil/extracts and Folin-Ciocalteu reagent (0.5 mL) were added to 900  $\mu$ L of distilled water and vortexed. After 3 min, 3 mL of 7.5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> solution was added, vortexed and kept in dark conditions for 2 h. The readings were taken at 750 nm wavelength in a UV-Vis spectrophotometer (Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis, CA, US) (Zhang et al., 2014).

## 2.8 Statistical analysis

All analysis were carried out three times in duplicate. The obtained data were analyzed by the Duncan's multiple range test method with a 95% confidence interval ( $p < 0.05$ ) using the IBM SPSS Statistics 20 package program.

## 3. RESULT and DISCUSSION

### 3.1 Antimicrobial Activity of Tarragon Essential Oil and Extracts

MIC and MBC of essential oil, water and ethanol extracts were investigated against three pathogen bacteria and one yeast (Table 1). It was observed that the MIC and MBC values of essential oil, water and ethanol extract against bacteria between 20.75-41.50 mg/mL, 25.00 mg/mL and 2.01-8.04 mg/mL, respectively. While MIC and MFC of essential oils against yeast were 2.59 mg/mL; only MIC value was found in ethanol extract (2.12 mg/mL). Among the microorganisms, *S. cerevisiae* was the most sensitive microorganism to tarragon essential oil, and the most resistant was *S. aureus*. When the extracts were analyzed, the MIC values of ethanol extract against *S. cerevisiae* and *S. aureus* were shown to have high antimicrobial activity toward the other microorganisms. However, water extract has not shown antifungal activity. Sayout et al. (2020) have defined the bactericidal effect in their study as MBC/MIC values below 4. It was shown that both the essential oil and the water extract have bactericidal effects on tested bacterial cultures. Chaleshtori et al. (2013) reported that the antibacterial activity of tarragon essential oil on *S. aureus*, MIC and MBC values were 62.40 and 250.00 mg/mL respectively. Raeisi et al. (2019) have identified the MIC values of tarragon essential oil against *S. aureus* PTCC 1015, *S. Typhimurium* PTCC 1730, *E. coli* PTCC 1533 and 0.625, 2.50 and 7.25 mg/mL, respectively. Researchers showed that tarragon essential oil was more sensitive to *S. aureus* and more resistant to *E. coli* and *S. Typhimurium*. In the present study, it was determined that the most resistant bacterium was

*S. aureus*. These differences can be caused by the differences in test cultures, major components of the essential oil, the country of origin, climatic conditions, etc.

Table 1. MIC and MBC/MFC values of tarragon essential oil and extracts against test cultures

	<i>S. aureus</i>		<i>S. Typhimurium</i>		<i>E. coli O157:H7</i>		<i>S. cerevisiae</i>	
	MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)	MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)	MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)	MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)
<b>Essential Oil</b>	41.50	41.50	20.75	20.75	20.75	20.75	2.59	2.59
<b>Ethanol Extract</b>	2.01	4.02	4.02	8.04	4.02	-*	2.12	-*
<b>Water Extract</b>	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00	-*	-*

-\* MIC, MBK/MFC not detected.

Among the tested plant materials, only tarragon essential oil has shown inhibition zone for all the test cultures (Table 2). Inhibition zone diameter of essential oil for *S. aureus*, *S. Typhimurium*, *E. coli O157:H7* and *S. cerevisiae* were not statistically different from each other ( $p > 0.05$ ). Among bacteria, the highest antibacterial effect was detected against *E. coli O157:H7* (13.75 mm). Raeisi et al. (2019) observed that tarragon essential oil has between 7.81-11.13 mm inhibition zone diameter on *S. aureus* PTCC 1015, *S. Typhimurium* PTCC 1730 and *E. coli* PTCC 1533 by using disc diffusion method.

Table 2. Inhibition zone diameters of tarragon essential oil, water and ethanol extracts

	Inhibition zone diameter (mm)*			
	<i>S. aureus</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>E. coli O157:H7</i>	<i>S. cerevisiae</i>
<b>Essential Oil</b>	12.00 ± 0.08 <sup>a</sup>	11.83 ± 0.14 <sup>a</sup>	13.75 ± 0.13 <sup>b</sup>	14.35 ± 0.09 <sup>b</sup>
<b>Ethanol Extract</b>	-**	-**	-**	-**
<b>Water Extract</b>	-**	-**	-**	-**

\*Standard deviation values indicated after ±. Different letters (a,b) in the same column indicate statistically significant difference ( $P < 0.05$ ).

\*\* inhibition zone diameter was not detected.

Considering the result of this study, tarragon ethanol extract which has high antimicrobial, antioxidant and total phenolic content were selected and its synergistic effect was investigated together with sour orange juice. According to Table 3, individual MIC values of sour orange juice and tarragon ethanol extract against pathogen bacteria were obtained as 1.56-3.13 (v/v) and 2.01-4.02 mg/mL, respectively. The use of ethanol extract with sour orange juice decreased the MIC values. The antibacterial effect of the combination of two plant materials was determined as partial synergy and additive effects. While the partial synergistic effect was found against *S. Typhimurium* and *E. coli O157:H7*, only additive effect was detected on *S. aureus*. Additionally, no antagonistic effects were found at any concentration of ethanol extract and sour orange juice. To our knowledge, this is the first report that investigates the synergistic effect of tarragon ethanol extract with sour orange juice against pathogen bacteria.

Table 3. Antimicrobial efficacy of the combinations of sour orange juice (SOJ) and tarragon ethanol extract (TEE)

	MIC values (SOJ (%v/v), TEE (mg/mL))				FICI	Result
	Alone		Combination			
	SOJ	TEE	SOJ	TEE		
<i>S. aureus</i>	1.56	2.01	0.78	1.05	1.00	Additive effect
			1.56	0.25	1.12	Additive effect
<i>S. Typhimurium</i>	3.13	4.02	1.56	0.25	0.56	Partial synergy
			0.78	2.01	0.75	Partial synergy
<i>E. coli</i> O157:H7	1.56	4.02	0.78	2.01	1.00	Additive effect
			0.39	2.01	0.75	Partial synergy
			0.20	2.01	0.63	Partial synergy

### 3.2 Antioxidant Activity and Total Phenolic Content (TPC) of Essential Oil and Extracts

The antioxidant activity and TPC of tarragon essential oil, water and ethanol extracts are presented in Table 4. The results showed that the antioxidant and TPC of tarragon ethanol extract was higher than that of essential oil and water extract ( $p < 0.05$ ). The lowest antioxidant activity and TPC were determined in tarragon essential oil ( $p < 0.05$ ). On the contrary, the antioxidant activity of tarragon essential oil was found 12.5% by DPPH analysis, and the TPC was 10.16 mg GAE/g by Folin-Ciocalteu reagent method (Chaleshtori et al., 2013). Behbahani et al. (2017) obtained that the TPC of tarragon ethanol extract was 24.10 mg GAE/g. Other researchers also observed that the TPC of tarragon ethanol extract which was stored for 2 months was found about 1.71 mg GAE/g (Stanciu et al., 2017). It was determined that the TPC and antioxidant activities of tarragon essential oil, water and ethanol extracts are based on country of origin and city, harvesting time, temperature, geographical situation, parts of the plant and extraction method etc. (Kordali et al., 2005; Chaleshtori et al., 2013; Mumivand et al., 2017; Azizkhani et al., 2021; Pelarti et al., 2021).

Table 4. Antioxidant activity and TPC of tarragon essential oil, ethanol and water extracts

EO/Extracts of tarragon	Antioxidant activity (%)*	Total Phenolic Content (TPC) (mg GAE/g)*
Essential oil	3.20 ± 2.15 <sup>a</sup>	35.57 ± 1.87 <sup>a</sup>
Ethanol extract	31.78 ± 11.38 <sup>c</sup>	126.92 ± 5.17 <sup>c</sup>
Water extract	21.49 ± 2.91 <sup>b</sup>	55.29 ± 1.46 <sup>b</sup>

\* Standard deviation values indicated after ±. Different letters (a-c) in the same column indicate statistically significant difference ( $p < 0.05$ ).

## 4. CONCLUSION

The results were shown that tarragon ethanol extract was antimicrobial activity against the test pathogens. According to disc diffusion analysis results, tarragon essential oil has antimicrobial activity on test cultures. It has been determined that the use of ethanol extract with sour orange juice has an inhibitory effect at lower concentrations against pathogenic microorganisms. This effect has been defined as partial synergy or additive effects. Considering the partial synergy and additive effect of sour orange juice and ethanol extract at low concentrations as well as its high phenolic content, it is recommended to conduct studies on tarragon as a natural antimicrobial agent in foods.

## 5. ACKNOWLEDGEMENT

The financial supports of Ege University Research Foundation (Project No:FM-YLT-2022-23945) are gratefully acknowledged.

## 6. REFERENCES

- Ayoughi, F., Barzegar, M., Sahari, A.M., Naghdibadi, H., 2011, Chemical Compositions of Essential Oils of *Artemisia dracunculus* L. and Endemic *Matricaria chamomilla* L. and an Evaluation of their Antioxidative Effects, *Journal of Agricultural Science and Technology*, 13: 79-88.
- Aziz, M., and Karboune, S., 2018, Natural antimicrobial/antioxidant agents in meat and poultry products as well as fruits and vegetables: A review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 5(3): 486-511.
- Azizkhani, M., Jafari Kiasari, F., Tooryan, F., Shahavi, M. H., Partovi, R., 2021, Preparation and evaluation of food-grade nanoemulsion of tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) essential oil: antioxidant and antibacterial properties, *Journal of Food Science and Technology*, 58(4): 1341-1348.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M., 2008, Biological Effects of Essential Oils - a Review, *Food Chem. Toxicol.* 46: 446-475.
- Bal, Ç., 1999, Antibiyotik Kombinasyonlarının in vitro Etkinliğinin Saptanması, *Flora*, 4(4): 219-229.
- Bayaz, M., 2014, Esansiyel Yağlar: Antimikrobiyal, Antioksidan ve Antimutajenik Aktiviteleri, *Akademik Gıda*, 12(3): 45-53.
- Behbahani, B. A., Shahidi, F., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., Mohebbi, M., 2017, Antioxidant activity and antimicrobial effect of tarragon (*Artemisia dracunculus*) extract and chemical composition of its essential oil, *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(2): 847-863.
- Beristain-Bauza, S. D. C., Hernández-Carranza, P., Cid-Pérez, T. S., ... & Ochoa-Velasco, C. E., 2019, Antimicrobial Activity of Ginger (*Zingiber Officinale*) and Its Application in Food Products, *Food Reviews International*, 35(5): 407-426.
- Bertella, A., Benlahcen, K., Abouamama, S., Pinto, D. C. G. A., Maamar, K., Kihal, M., Silva, A.M.S., 2018, *Artemisia herba-alba* Asso. Essential Oil Antibacterial Activity and Acute Toxicity, *Industrial Crops and Products*, 116: 137-143.
- Bhattacharjee, D., Das, A., Dhua, S.R., 2014, Fresh-Cut Vegetables: A Consumer-Friendly Approach, *International Journal of Science and Research*, 9(3): 47-50.
- Chaleshtori, S.R., Rokni, N., Razavilar, V., Kopaei, R.M., 2013, The Evaluation of the Antibacterial and Antioxidant Activity of Tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) Essential Oil and Its Chemical Composition, *Jundishapur Journal of Microbiology*, 6(9): e7877p.
- Chauhan, S.R., Kitchlu, S., Ram, G., Kaul, K.M., Tava, A., 2010, Chemical composition of capillene chemotype of *Artemisia dracunculus* L. from North-West Himalaya, India, *Industrial Crops and Products*, 546-549.
- Christaki, S., Moschakis, T., Kyriakoudi, A., Biliaderis, G.C., 2021, Recent advances in plant essential oils and extracts: Delivery systems and potential uses as preservatives and antioxidants in cheese, *Trends in Food Science & Technology*, 116: 264-278.
- Cordery, A., Rao, P.A., Ravishankar, S., 2018, Antimicrobial Activities of Essential Oils, Plant Extracts and their Applications in Foods-A Review, *Journal of Agriculture and Environmental Sciences*, 7(2): 76-89.
- Draper, A.L., Cotter, D.P., Hill, C., Ross, P.R., 2013, The two peptide lantibiotic lactacin 3147 acts synergistically with polymyxin to inhibit Gram negative bacteria, *BMC Microbiology*, 13:212.
- Ekiert, H., Swiatkowska, J., Knut, E., Klin, P., Rzepiela, A., Tomczyk M., Szopa, A., 2021, *Artemisia dracunculus* (Tarragon): A Review of Its Traditional Uses, Phytochemistry and Pharmacology, *Frontiers in Pharmacology*, 12p.
- Gunasena, T.M., Rafi, A., Zobir, M.A.S., Hussein, Z.M., ... & Ahmad, K., 2022, Phytochemicals Profiling, Antimicrobial Activity and Mechanism of Action of Essential Oil Extracted from Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe cv. Bentong) against *Burkholderia glumae* Causative Agent of Bacterial Panicle Blight Disease of Rice, *Plants*, 11, 1466.



- Gündüz, T.G., Korkmaz, A., Solak, E., Sözbir, H. D., 2019, Antimicrobial, Antioxidant Activities and Total Phenolic Contents of the Traditional Turkish Beverages Produced by Using Grapes, *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 7: 119-125.
- Gutierrez, J., Bourke, P., 2008, The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients, *International Journal of Food Microbiology*, 124: 91-97.
- Hashemi, B.M.S., Khaneghah, M.A., Barba, J.F., Nemati, Z., Shokofti, S.S., Alizadeh, F., 2017, Fermented sweet lemon juice (*Citrus limetta*) using *Lactobacillus plantarum* LS5: Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities, *Journal of Foods*, 38: 409-417.
- Hu, H., Zheng, X., Hu, H., 2012, Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activity of the essential oil from the leaves of *Acanthopanax leucorrhizus* (Oliv.) Harms, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 34(2): 618-623.
- Jagannathan, V.B., Dakoske, M., Vijayakumar, P.P., 2022, Bacteriophage-mediated control of pre- and post-harvest produce quality and safety, *LWT- Food Science and Technology*, 199: 113912p.
- Kordali, S., Kotan, R., Mavi, A., Cakır, A., Ala, A., Yıldırım, A., 2005, Determination of the Chemical Composition and Antioxidant Activity of the Essential Oil of *Artemisia dracunculus* and of the Antifungal and Antibacterial Activities of Turkish *Artemisia absinthium*, *A. dracunculus*, *Artemisia santonicum*, and *Artemisia spicigera* Essential Oils, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 9452-9458.
- Kutlu, N., Kamiloglu, A., Elbir, T., 2022, Optimization of Ultrasound Extraction of Phenolic Compounds from Tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) Using Box–Behnken Design, *Biomass Conversion and Biorefinery*, 12: 5397-5408.
- Lucera, A., Costa, C., Conte, A., Nobile, D.A.M., 2012, Food applications of natural antimicrobial compounds, *Frontiers in Microbiology*, 3: 287.
- Moghaddam, A. M. D., Shayegh, J., Mikaili, P., Sharaf, J. D., 2011, Antimicrobial activity of essential oil extract of *Ocimum basilicum* L. leaves on a variety of pathogenic bacteria, *Journal of Medicinal Plants Research*, 5 (15), 3453-3456.
- Mukhopadhyay, S., Sokorai, K., Ukuku, O.D., Jin, T., Fan, X., Olanya, M., Juneja, V., 2018, Inactivation of Salmonella in grape tomato stem scars by organic acid wash and chitosan-allyl isothiocyanate coating, *International Journal of Food Microbiology*, 266: 234-240.
- Mumivand, H., Babalar, M., Tabrizi, L., Craker, E.L., Shokpour, M., Hadian, J., 2017, Antioxidant Properties and Principal Phenolic Phytochemicals of Iranian Tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) Accessions, *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 58(4): 414-422.
- Mun, H.S., Joung, K.D., Kim, S.Y., Kang, H.O., Kim, B.S., Seo, S., ... & Kwon, Y.D., 2013, Synergistic antibacterial effect of curcumin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Phytomedicine*, 20: 714-718.
- Narangerel, T., Bonikowski, R., Jastrzabek, K., Kunicka-Styczynska, A., Plucinska, A., Smigielski, K., Majak, I., Bartos, A., Leszczynska, J., 2021, Chemical and Biological Characteristics of *Oxytropis pseudoglandulosa* Plant of Mongolian Origin, *Molecules*, 26: 7573p.
- Nasrollahzadeh, A., Mokhtari, S., Khomeiri, M., Saris, J.E.P., 2022, Antifungal Preservation of Food by Lactic Acid Bacteria, *Foods*, 11: 395.
- Obolskiy, D., Pischel, I., Feistel, B., Glotov, N., Heinrich, M., 2011, *Artemisia dracunculus* L. (Tarragon): A Critical Review of Its Traditional Use, Chemical Composition, Pharmacology, and Safety, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59: 11367-11384.
- Pappas, S.R., Sturtz, G., 2001, Unusual Alkynes Found in the Essential Oil of *Artemisia dracunculus* L. var. *dracunculus* from the Pacific Northwest, *Journal of Essential Oil Research*, 13: 187-188.

- Pelarti, M.S., Zarehshuran, K.L., Babaeekhou, L., Ghane, M., 2021, Antibacterial, anti-biofilm and anti-quorum sensing activities of *Artemisia dracunculus* essential oil (EO): a study against *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and *Staphylococcus aureus*, *Archives of Microbiology*, 203: 1529-1537.
- Peng, L. Y., Yuan, M., Cui, Z. Q., Wu, Z. M., Yu, Z. J., Song, K., Fu, B. D., 2018. "Rutin inhibits quorum sensing, biofilm formation and virulence genes in avian pathogenic *Escherichia coli*" *Microbial pathogenesis*, 119: 54-59.
- Qader, O.K., Salah, M.F.T., Rasul, A.A., 2017, GC-MS Analysis of Essential Oil Extract from Leaves and Stems of Tarragon (*Artemisia dracunculus*, L.), *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 7(5): 20-27.
- Raeisi, M., Bidkorpeh, G.F., Hashemi, M., Tepe, B., Moghaddam, Z., Mohammadi, A.M., Noori, A.M.S., 2019, Chemical Composition and Antibacterial and Antioxidant Properties of Essential Oils of *Zataria multiflora*, *Artemisia dracunculus* and *Mentha piperita*, *Medical Laboratory Journal*, 13(2): 1-7.
- Sayout, A., Ouarhach, A., Dilagui, I., Soraa, N., Romane, A., 2020, Antibacterial activity and chemical composition of essential oil from *Lavandula tenuisecta* Coss.ex Ball. an endemic species from Morocco, *European Journal of Integrative Medicine*, 33: 101017.
- Serce, S., Ercisli, S., Sengul, M., Gunduz, K., Orhan, E., 2010, Antioxidant Activities and Fatty Acid Composition of Wild Grown Myrtle (*Myrtus communis* L.) Fruits, *Pharmacognosy Magazine*, 6(21): 9.
- Shan, B., Cai, Z.Y., Brooks, D.J., Corke, H., 2009, Antibacterial and antioxidant effects of five spice and herb extracts as natural preservatives of raw pork, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89: 1879-1885.
- Stanciu, G., Cristache, N., Lupsor, S., Dobrinas, S., 2017, Evaluation of Antioxidant Activity and Total Phenols Content in Selected Spices, *Revista De Chime*, 68(7): 1429-1434.
- Thwaites, M., Hall, D., Shinabarger, D., Serio, A. W., Krause, K. M., Marra, A., Pillar, C., 2018, Evaluation of the bactericidal activity of plazomicin and comparators against multidrug-resistant Enterobacteriaceae. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 62(8), e00236-18.
- Var, I., Uzunlu S., Değirmenci, I., 2021. Antimicrobial effects of fruit sauces on some pathogenic bacteria in vitro and on chicken breast meat, *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 72(1): 2703-2712.
- Wu, H., Zhao, F., Li, Q., Huang, J., Ju, J., 2022, Antifungal mechanism of essential oil against foodborne fungi and its application in the preservation of baked food, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, DOI: 10.1080/10408398.2022.2124950.
- Yu, H.H., Chin, W.Y., Paik, D.H., 2021, Application of Natural Preservatives for Meat and Meat Products against Food-Borne Pathogens and Spoilage Bacteria: A Review, *Foods*, 10:2418.
- Zanet, V., Vidic, J., Auger, S., Vizzini, P., Lippe, G., Iacumin, L., Comi, G., Manzano, M., 2019. "Activity evaluation of pure and doped zinc oxide nanoparticles against bacterial pathogens and *Saccharomyces cerevisiae*", *Journal of Applied Microbiology*, 127(5): 1391-1402.
- Zhang, J., Rui, X., Wang, L., Guan, Y., Sun, X., Dong, M., 2014, Polyphenolic extract from *Rosa rugosa* tea inhibits bacterial quorum sensing and biofilm formation, *Food Control*, 42:125-131.

**THE EFFICACY OF ULTRASOUND TREATMENT COMBINED WITH PLANT MATERIALS ON FOODBORNE PATHOGENS**

**Gülten TIRYAKI GÜNDÜZ<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Ege University, Engineering Faculty, Food Engineering Department, İzmir, Türkiye

<sup>1</sup> ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5878-7411>

**Ayça KORKMAZ VURMAZ<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Ege University, Engineering Faculty, Food Engineering Department, İzmir, Türkiye

<sup>1</sup> ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2084-5337>

**Özge AKGÜL<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Ege University, Engineering Faculty, Food Engineering Department, İzmir, Türkiye

<sup>1</sup> ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1836-449X>

**ABSTRACT**

Consumption of food that was contaminated with pathogen bacteria causes serious concern to public health. Recent outbreaks related to food products and increasing public health concerns about chemical preservatives have revealed the necessity for the development of efficient decontamination technologies to ensure consumer safety. Due to their safety and high efficacy, natural alternatives like essential oils and extracts prepared from well-known aromatic medicinal herbs have attracted a lot of interest from the food industry. Also, the producers' top priority being increasing the shelf life of food products, and the food industry needs "greener" substitutes for the current methods. Ultrasound (US) treatment is one of the non-thermal technologies, that is used to inactivate microorganisms. US is composed of pressure waves having a minimum frequency of 20 kHz, which encourages cavitation by causing bubbles to form, grow, and deflate quickly. The cavitation phenomenon in ultrasound leads to microbial inactivation by increasing the temperature and pressure of the local areas. On the other hand, decontamination efficacy of ultrasound alone is limited. Combinations of ultrasound and natural antimicrobials such as the use of plant materials extract or essential oils (EOs) could be used for enhancing microbial inactivation. The aim of this review is to provide information about the efficacy of ultrasound treatment combined with extracts or EOs in different food matrices. Studies show that efficiency of ultrasound is dependent on the food matrices, the pathogenic bacteria that was investigated or the use of method alone or combined with extracts or EOs.

**Keywords:** Ultrasound, pathogen, foodborne diseases, extract, essential oil

**INTRODUCTION**

Consumption of food that has been contaminated with pathogenic bacteria, viruses, or parasites can result in foodborne illnesses (Adley and Ryan, 2016). The US Centers for Disease Control and Prevention (CDC) forecasts that 48 million people get ill and 3000 of them die every year because of foodborne diseases. Norovirus, *Staphylococcus aureus*, *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes* etc. are some of the main foodborne pathogens (CDC, 2022). Contamination can occur at various stages of food production from pre-harvest to distribution (Dhifi et al., 2020). Heat or chemical treatments can be used for preservation of foods but due to undesirable changes in physical or chemical properties of food, inactivation of enzymes, degradation of natural compounds and consumers' desires for "greener" technologies, interest for non-thermal and non-chemical treatments are increased (Yüksel, 2013; Dinçer and Topuz, 2018). High-pressure processing (HPP), pulsed electric field (PEF), ultrasound (US), cold plasma, and ultraviolet irradiation (UV) are some of the innovative, non-thermal methods used in food processing (Singla and Sit, 2019).

A promising approach for the inhibition of growth of pathogen bacteria, the prevention of lipid oxidations and prolonging the shelf life of food products is the use of plant extracts or essential oils (EOs) as an alternative to chemicals or synthetic antimicrobials (Perumalla and Hettiarachchy, 2011). EOs and plant extracts can be obtained from different parts of the plants such as leaves, berries, stems, roots, seeds etc. with different methods such as fermentation, extraction, distillation or enfleurage (Cordery et al., 2018). EOs and plant extracts are rich in secondary metabolites such as phenolic acids, quinones, saponins, flavanols/flavonoids, tannins, terpenoids and alkaloids, and these compounds display pharmaceutical, antioxidant and antimicrobial activities (Perumalla and Hettiarachchy, 2011; Gyawali and Ibrahim, 2014; Cordery et al., 2018). The use of plant extracts or EOs prevents the growth of foodborne pathogens and diminishes the risk of diseases (Saeed et al., 2019).

Ultrasound (US) is an environment-friendly method that has been used in different fields like pharmaceutical and food industries and medical therapies (Dai et al., 2020; Chen et al., 2022). In food industry, ultrasonication is utilized for a variety of processes including tenderization, sterilization, extraction, purification, microbial inactivation and drying etc. (Chen et al., 2020; Dai et al., 2020; Yuan et al., 2021). Sound waves greater than 20 kHz are defined as ultrasound and when waves contact with the medium, they create compression and decompression (rarefaction) in the particles of the medium and this process provides a significant amount of energy and increases mass transfer (Bhargava et al., 2021). Microbial inactivation by ultrasound occurs by production of localized thermal (hot spots), chemical and mechanical energy caused by cavitation phenomenon. Cavitation basically creates micro-jets leading disruption of membrane and microorganism as well as damaging DNA by releasing free radicals (do Rosário et al., 2017). Many studies have been done to investigate the antimicrobial activity of combined methods (Singla and Sit, 2021).

This review outlines the use of plant materials and ultrasound technology and summarizes the current studies about efficiency of ultrasound combined with natural antimicrobials on foodborne pathogens.

### **Antimicrobial Activity of Plant Materials**

Different methods have been investigated recently to replace synthetic antimicrobials in food industry. The use of plant essential oils (EOs) or extracts are a promising practice to supply this need (de Medeiros Barbosa et al., 2016). Plant and its derivatives have been used since ancient times as a flavoring agent as well as food preservatives and in traditional medicine. EOs and their constituents have hydrophobic structure that causes separation of the cell membrane's lipids and mitochondria, disrupting the structure and making it more permeable, resulting leakage of ions and cell contents. While small amount of leakage is not a treat to the bacterial cell, as the amount of leakage increases, it can result in the death of cells (Burt, 2004). Their mode of action consists of membrane breakage, inhibition of ATP-ase, leakage of essential biomolecules, disruption of proton motive force and inactivation of enzymes (Nicolau-Lapeña et al., 2019).

Studies on the antimicrobial mode of action of plant EOs/extracts mostly focus on bacteria whereas there are limited studies for those of fungi. Gram negative bacteria that have hydrophilic lipopolysaccharides (LPS) which create a barrier towards macromolecules and hydrophobic compounds are more resilient than Gram positive bacteria (Hyldgaard et al., 2012). Mir et al. (2020) observed that Gram positive bacteria are more responsive to ethanol extract of myrtle leaves and extract's mode of action might be on the cell wall of the bacteria considering the morphological changes in the cell wall.

Several studies showed the potential use of plant EO/extracts for microbial decontamination of food. Poimenidou et al. (2016) declared that treatment of lettuce samples with oregano aqueous extract for 2 min reduced the number of *E. coli* O157:H7 by 2.1 log CFU/g. Tayel et al. (2012) have found that combined use of pomegranate peel extract, lemon grass extract and cinnamon bark extract at their minimum inhibitory concentrations (MIC) (250, 550, and 350 µg/mL, respectively) resulted in total inhibition at day 1 on meat steak samples that were inoculated with *Salmonella* Typhimurium and *Staphylococcus aureus*. Clemente et al. (2020) reported that sequential (first PEF then EO application) combination of pulsed electric field (1 kV/cm) and oregano EO at MIC/4 concentration (MIC: 62.5 ppm) provided 1.5 log CFU/g reduction on *Campylobacter jejuni* inoculated to raw chicken.

One of the limitations on using plant materials is that most essential oils and extracts have a very strong flavor which can exhibit an intense aroma that negatively affects sensory quality. In order to reduce the

limitations of plant material applications as food preservatives, hurdle technology has been used (Falleh et al., 2020).

### Antimicrobial Activity of Ultrasound Treatment

Low-frequency ultrasound (20–100 kHz) treatment is revealed to have an efficient antibacterial activity and is a beneficial way to inactivate foodborne pathogens (Zhang et al., 2021). Ultrasound treatment has several invasive strategies of inactivation against bacterial cells. The intracellular cavitation, hotspot creation, DNA damage, and free radical generation that occur during ultrasonic treatments are linked to its antimicrobial action (Zinoviadou et al., 2015; Alves de Aguiar Bernardo et al., 2021).

Sagong et al. (2011) have found that US (40 kHz, 30 W/L power) treatment for 60 min reduced the number of *S. Typhimurium* by 1.64 log CFU/g. According to Cruz-Cansino et al. (2016) application of US treatment at 90% amplitude for 5 min reduced the numbers of *E. coli* to non-detectable levels in cactus pear juice for 2 days with no negative impact on food qualities. Alenyorege et al. (2019) observed a 1.29 log CFU/g reduction of *L. innocua* after washing Chinese cabbage with ultrasound for 10 min. Significant differences exist between Gram-negative and Gram-positive bacteria regarding the impact of ultrasound (Ngnitcho et al., 2018; Alenyorege et al., 2019; Bonah et al., 2021). Because of a thicker cell wall due to having peptidoglycan layer, which preserves the cell against sonication, Gram-positive bacteria are more resistant than Gram-negative to the lethal effects of ultrasound treatment (Ananta et al., 2005). Maleki et al. (2013) noted that *P. aeruginosa* is more sensitive against ultrasonic treatments compared to *S. aureus*.

According to the literature, the inactivation capability of ultrasound alone is limited, and the cavitation effect may cause damage to food quality (Brilhante São José and Dantas Vanetti, 2012). Therefore, for enhancing microbial inactivation, ultrasound treatment can be combined with other preservation techniques (Ozcan and Zorba, 2016). It is promising to use ultrasound in combination with food-grade antimicrobials, and studies have shown its success in pathogen inactivation while maintaining the sensory characteristics of food (Zhang et al., 2021).

### Combined Use of Ultrasound and Plant Materials

Ultrasound applications combined with the other inactivation methods increases the efficacy of treatment. Combination of US and cinnamon essential oil in milk samples exhibited the highest antibacterial effect against *L. monocytogenes* and *S. Typhimurium* with 4.5 and 3.8 log reductions, respectively. On the other hand, the decontamination efficacy of ultrasound alone is low with 1.6 and 0.7 log reductions of *S. Typhimurium* and *L. monocytogenes*, respectively (Mortazavi and Aliakbarlu, 2019). In a study where efficiency of combined use of US (20 kHz, 130 W) and citrus extract on skim milk inoculated with *Pseudomonas purida* or *Staphylococcus* spp. was investigated, single use of US with distilled water ensured 2.02 CFU/mL and 2.00 CFU/mL reductions, respectively. Combined use of US (8 min) and citrus extract (100 ppm) provided 2-3 log CFU/mL and 2.4-2.6 log CFU/mL reductions on *P. purida* and *Staphylococcus* spp. during the storage period of 8 days (Bevilacqua et al., 2016).

Ferrante et al. (2007) have found that ultrasonication (20 kHz, 600 W, 15 min) after 1000 ppm vanillin addition to orange juice provoked a 1.8 log reduction on *L. monocytogenes*. When concentration of vanillin increased to 1500 ppm, reduction of the test culture increased to 3.5 log CFU/mL. Addition to this, while use of citral alone didn't show any antimicrobial activity on *L. monocytogenes* in orange juice, combined use of citral and US resulted in 2 log reduction of the test culture.

He et al. (2021a) investigated the effect of ultrasound and thyme EO nanoemulsions (TEON) against *S. aureus*. It was found that combined use of US and TEON resulted in 3.21–4.51 log reductions on the test culture whereas US treatment alone displayed reductions ranging between 0.03- 0.36 log CFU/mL. He et al., 2021b reported that combined use of US (167 W/L) and TEON (0.0625 mg/mL) reduced the *E. coli* O157:H7 on cherry tomato surfaces by 4.49-6.72 log CFU/g. In another study where antimicrobial activity of the combined use of US and TEON examined, combination of US and TEON showed reductions between 5.14-7.42 log CFU/mL on *E. coli* O157:H7 depending on the time and the power of ultrasound. At the highest US power (255 W/cm<sup>2</sup>) and time (9 min), US alone displayed 0.69 log CFU/mL reduction on the test culture whereas TEON alone carried out a 4.13 log CFU/mL reduction (Guo et al., 2020). Yang et al. (2023) reported that combined use of 0.3 mg/mL citral nanoemulsion and

US (20 kHz) resulted in 9.05 log reduction on *Salmonella* Typhimurium in phosphate-buffered saline. On kale leaves inoculated with *S. Typhimurium*, this combination ensured 2.56 log CFU/g reduction while US alone provided 1.12 log CFU/g reduction.

Park et al. (2018) indicated that US treatment alone showed 0.40 and 0.48 log CFU/g reduction on *L. monocytogenes* and *E. coli* O157:H7 inoculated to fresh-cut endives, respectively. Combined use of emulsion of cinnamon leaf oil (%0.05) containing cetyl pyridinium chloride (%0.005) or benzalkonium chloride (%0.005) and US treatment (40 kHz, 140 W) resulted in 1.58 and 1.47 log CFU/g reduction for *L.monocytogenes* and 1.60 and 1.46 log CFU/g reduction for *E.coli* O157:H7, respectively.

Millan-Sango et al. (2015) investigated the effect of oregano EO and continuous (25 kHz) or pulsed (2 s on/8 s off) US treatment on lettuce leaves inoculated with *E. coli*. Combined continuous US and 0.018% v/v of EO ensured 3.34 CFU/cm<sup>2</sup> reduction, for pulsed mode US provided 3.23 CFU/cm<sup>2</sup> reduction on *E. coli* at the same concentrations of EO. The highest reduction was observed in combinations of US and 0.025% oregano EO (4.70 CFU/cm<sup>2</sup> for combination with pulsed mode and under detection limit for continuous US). Ultrasound treatment is a developing approach to decontaminate microorganisms in food products. Millan-Sango et al. (2016) reported that combined use of oregano (EOO) essential oil (>0.018%) with low-frequency US for decontamination of lettuce showed a significant efficacy in reducing *Salmonella enterica* Abony, compared to the control. While single use of US reduced the pathogenic bacteria on the surface of the lettuce leaves by 1.68-2.23 CFU/cm<sup>2</sup>, combined use of 0.018% v/v of EOO and continuous or pulsed US reduced the test culture up to 3.08 CFU/cm<sup>2</sup> and 2.95 CFU/cm<sup>2</sup>, respectively (Millan-Sango et al., 2016).

In a study, optimized conditions for the combined use of nisin, oregano and US (50 kHz, 600 W) against *E. coli* O157:H7 and *L. monocytogenes* on lettuce were determined as 0.185% v/v oregano, 14.65 min ultrasound and 771.2 IU/g nisin, providing 3.43 log CFU/mL and 9.20 log CFU/mL reductions for *E. coli* O157:H7 and *L. monocytogenes*, respectively (Takundwa et al., 2021). On the contrary, Özcan and Zorba (2015) have evaluated the influence of cinnamon EO alone and in combination with ultrasound treatment (20, kHz, 500 W) on salad samples inoculated with *Listeria monocytogenes* during the storage period. Results indicated that 2% cinnamon EO treatment reduced the number of *L. monocytogenes* about 2 log unit on day 1 (12 h) whereas combined treatment with ultrasound showed 0.85 log reduction on *L. monocytogenes* on the 1st day of storage. It was also reported that number of *L. monocytogenes* increased during storage period and, the numbers were not significantly different at day 9 when compared with the untreated control samples (p>0.05). The ultrasonic system or operational approach may account for the difference between microbial reductions caused by the combined methods and EO application alone. Extending the duration of the ultrasound time would result in a higher microbial reduction, provided that the quality of the product remains acceptable.

## CONCLUSION

The hurdle technologies to overcome the challenges presented by food-borne pathogens are a promising approach. This review analyzed the use of combined treatments of US with plant materials for the purposes of food safety. Based on the available literature, it was found that ultrasound applications combined with plant materials showed a potential effect for the inactivation of foodborne pathogens. It is suggested that further studies at both academic and industrial levels for possible scaling up of these combined treatments can be conducted in future applications.

## REFERENCES

- Adley, C. C., & Ryan, M. P. (2016). The nature and extent of foodborne disease. In *Antimicrobial Food Packaging* (pp. 1-10). Academic Press.
- Alves de Aguiar Bernardo, Y., Kaic Alves do Rosario, D., & Adam Conte-Junior, C. (2021). Ultrasound on milk decontamination: Potential and limitations against foodborne pathogens and spoilage bacteria. *Food Reviews International*, 1-14.
- Alenyorege, E. A., Ma, H., Ayim, I., Aheto, J. H., Hong, C., & Zhou, C. (2019). Reduction of *Listeria innocua* in fresh-cut Chinese cabbage by a combined washing treatment of sweeping frequency ultrasound and sodium hypochlorite. *LWT- Food Science and Technology*, 101, 410-418.

- Ananta, E., Voigt, D., Zenker, M., Heinz, V., & Knorr, D. (2005). Cellular injuries upon exposure of *Escherichia coli* and *Lactobacillus rhamnosus* to high-intensity ultrasound. *Journal of Applied Microbiology*, 99 (2), 271-278.
- Bevilacqua, A., Speranza, B., Iorio, M. C., Loi, M., Sinigaglia, M., & Corbo, M. R. (2016). US-inactivation of foodborne bacteria: Screening in distilled water and combination with citrus extract in skim milk. *LWT- Food Science and Technology*, 70, 135-141.
- Bhargava, N., Mor, R. S., Kumar, K., & Sharanagat, V. S. (2021). Advances in application of ultrasound in food processing: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 70, 105293.
- Bonah, E., Huang, X., Hongying, Y., Aheto, J. H., Yi, R., Yu, S., & Tu, H. (2021). Nondestructive monitoring, kinetics and antimicrobial properties of ultrasound technology applied for surface decontamination of bacterial foodborne pathogen in pork. *Ultrasonics Sonochemistry*, 70, 105344.
- Brilhante São José, J.F., & Dantas Vanetti M.C. (2012). Effect of ultrasound and commercial sanitizers in removing natural contaminants and *Salmonella enterica* Typhimurium on cherry tomatoes. *Food Control*, 24 (1-2), 95-99.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review, *International Journal of Food Microbiology*, 94 (3), 223-253.
- CDC (2022). Foodborne Germs and Illnesses. <https://www.cdc.gov/foodsafety/foodborne-germs.html> (Access Date: 15.02.2023)
- Chen, F., Zhang, M., & Yang, C. H. (2020). Application of ultrasound technology in processing of ready-to-eat fresh food: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 63, 104953.
- Chen, J., Chen, X., Zhou, G., & Xu, X. (2022). Ultrasound: A reliable method for regulating food component interactions in protein-based food matrices. *Trends in Food Science & Technology*, 128 (10), 316-330.
- Clemente, I., Condón-Abanto, S., Pedrós-Garrido, S., Whyte, P., & Lyng, J. G. (2020). Efficacy of pulsed electric fields and antimicrobial compounds used alone and in combination for the inactivation of *Campylobacter jejuni* in liquids and raw chicken. *Food Control*, 107, 106491.
- Cordery, A., Rao, A. P., & Ravishankar, S. (2018). Antimicrobial activities of essential oils, plant extracts and their applications in foods-A. *Journal of Agriculture and Environmental Sciences*, 7 (2), 76-89.
- Cruz-Cansino, N. D. S., Reyes-Hernández, I., Delgado-Olivares, L., Jaramillo-Bustos, D. P., Ariza-Ortega, J. A., & Ramírez-Moreno, E. (2016). Effect of ultrasound on survival and growth of *Escherichia coli* in cactus pear juice during storage. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47 (2), 431-437.
- Dai, J., Bai, M., Li, C., Cui, H., & Lin, L. (2020). Advances in the mechanism of different antibacterial strategies based on ultrasound technique for controlling bacterial contamination in food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 105, 211-222.
- de Medeiros Barbosa, I., da Costa Medeiros, J. A., de Oliveira, K. Á. R., Gomes-Neto, N. J., Tavares, Magnani, J. F., M., & de Souza, E. L. (2016). Efficacy of the combined application of oregano and rosemary essential oils for the control of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Enteritidis in leafy vegetables. *Food Control*, 59, 468-477.
- Dhifi, W., Jazi, S., El Beyrouthy, M., Sadaka, C., & Mnif, W. (2020) Assessing the potential and safety of *Myrtus communis* flower essential oils as efficient natural preservatives against *Listeria monocytogenes* growth in minced beef under refrigeration. *Food Science & Nutrition*, 8 (4), 2076-2087.
- Dinçer, C., & Topuz, A. (2018). Meyve suyu işleme ultrases kullanımı. *Gıda*, 43 (4), 569-581.
- do Rosário, D. K. A., da Silva Mutz, Y., Peixoto, J. M. C., Oliveira, S. B. S., de Carvalho, R. V., Carneiro, J. C. S., de Sao Jose J. F. B., & Bernardes, P. C. (2017). Ultrasound improves chemical reduction of natural contaminant microbiota and *Salmonella enterica* subsp. enterica on strawberries. *International Journal of Food Microbiology*, 241, 23-29.

- Falleh, H., Jemaa, M. B., Saada, M., & Ksouri, R. (2020). Essential oils: A promising eco-friendly food preservative. *Food Chemistry*, 330, 127268.
- Ferrante, S., Guerrero, S., & Alzamora, S. M. (2007). Combined use of ultrasound and natural antimicrobials to inactivate *Listeria monocytogenes* in orange juice. *Journal of Food Protection*, 70 (8), 1850-1856.
- Guo, M., Zhang, L., He, Q., Arabi, S. A., Zhao, H., Chen, W., Ye, X., & Liu, D. (2020). Synergistic antibacterial effects of ultrasound and thyme essential oils nanoemulsion against *Escherichia coli* O157: H7. *Ultrasonics Sonochemistry*, 66, 104988.
- Gyawali, R., & Ibrahim, S. A. (2014). Natural products as antimicrobial agents, *Food Control*, 46, 412-429.
- He, Q., Zhang, L., Song, L., Zhang, X., Liu, D., Hu, Y., & Guo, M. (2021a). Inactivation of *Staphylococcus aureus* using ultrasound in combination with thyme essential oil nanoemulsions and its synergistic mechanism. *LWT-Food Science and Technology*, 147, 111574.
- He, Q., Guo, M., Jin, T. Z., Arabi, S. A., & Liu, D. (2021b). Ultrasound improves the decontamination effect of thyme essential oil nanoemulsions against *Escherichia coli* O157: H7 on cherry tomatoes. *International Journal of Food Microbiology*, 337, 108936.
- Hyldgaard, M., Mygind, T., & Meyer, R. L. (2012). Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiology*, 3 (12), 1-24.
- Maleki, A., Shahmoradi, B., Daraei, H., & Kalantar, E. (2013). Assessment of ultrasound irradiation on inactivation of gram negative and positive bacteria isolated from hospital in aqueous solution. *Journal of Advances in Environmental Health Research*, 1 (1), 9-14.
- Millan-Sango, D., Garroni, E., Farrugia, C., Van Impe, J. F., & Valdramidis, V. P. (2016). Determination of the efficacy of ultrasound combined with essential oils on the decontamination of *Salmonella* inoculated lettuce leaves. *LWT-Food Science and Technology*, 73, 80-87.
- Millan-Sango, D., McElhatton, A., & Valdramidis, V. P. (2015). Determination of the efficacy of ultrasound in combination with essential oil of oregano for the decontamination of *Escherichia coli* on inoculated lettuce leaves. *Food Research International*, 67, 145-154.
- Mir, M. A., Bashir, N., Alfaify, A., & Oteef, M. D. (2020). GC-MS analysis of *Myrtus communis* extract and its antibacterial activity against Gram-positive bacteria. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 20 (1), 1-9.
- Mortazavi, N., & Aliakbarlu, J. (2019). Antibacterial effects of ultrasound, cinnamon essential oil, and their combination against *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Typhimurium in milk. *Journal of Food Science*, 84 (12), 3700-3706.
- Ngnitcho, P. F. K., Tango, C. N., Khan, I., Daliri, E. B. M., Chellian, R., & Oh, D. H. (2018). The applicability of Weibull model for the kinetics inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157: H7 on soybean sprouts submitted to chemical sanitizers in combination with ultrasound at mild temperatures. *LWT-Food Science and Technology*, 91, 573-579.
- Nicolau-Lapeña, I., Lafarga, T., Viñas, I., Abadias, M., Bobo, G., & Aguiló-Aguayo, I. (2019). Ultrasound processing alone or in combination with other chemical or physical treatments as a safety and quality preservation strategy of fresh and processed fruits and vegetables: a review. *Food and Bioprocess Technology*, 12 (9), 1452-1471.
- Özcan, G., & Zorba, N. N. D. (2016). Combined effect of ultrasound and essential oils to reduce *Listeria monocytogenes* on fresh produce. *Food Science and Technology International*, 22 (4), 353-362.
- Park, J. B., Kang, J. H., & Song, K. B. (2018). Improving the microbial safety of fresh-cut endive with a combined treatment of cinnamon leaf oil emulsion containing cationic surfactants and ultrasound. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28 (4), 503-509.



- Perumalla, A. V. S., & Hettiarachchy, N. S. (2011). Green tea and grape seed extracts—Potential applications in food safety and quality. *Food Research International*, 44 (4), 827-839.
- Poimenidou, S. V., Bikouli, V. C., Gardeli, C., Mitsi, C., Tarantilis, P. A., Nychas, G. J., & Skandamis, P. N. (2016). Effect of single or combined chemical and natural antimicrobial interventions on *Escherichia coli* O157: H7, total microbiota and color of packaged spinach and lettuce. *International Journal of Food Microbiology*, 220, 6-18.
- Saeed, F., Afzaal, M., Tufail, T., & Ahmad, A. (2019). Use of natural antimicrobial agents: a safe preservation approach. *Active Antimicrobial Food Packaging*, (pp. 1-8), Intechopen.
- Sagong, H. G., Lee, S. Y., Chang, P. S., Heu, S., Ryu, S., Choi, Y. J., & Kang, D. H. (2011). Combined effect of ultrasound and organic acids to reduce *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella Typhimurium*, and *Listeria monocytogenes* on organic fresh lettuce. *International Journal of Food Microbiology*, 145 (1), 287-292.
- Singla, M., & Sit, N. (2021). Application of ultrasound in combination with other technologies in food processing: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 73, 105506.
- Takundwa, B. A., Bhagwat, P., Pillai, S., & Ijabadeniyi, O. A. (2021). Antimicrobial efficacy of nisin, oregano and ultrasound against *Escherichia coli* O157: H7 and *Listeria monocytogenes* on lettuce. *LWT- Food Science and Technology*, 139, 110522.
- Tayel, A. A., El-Tras, W. F., Moussa, S. H., & El-Sabbagh, S. M. (2012). Surface decontamination and quality enhancement in meat steaks using plant extracts as natural biopreservatives. *Foodborne Pathogens and Disease*, 9 (8), 755-761.
- Yang, H., Song, L., Sun, P., Su, R., Wang, S., Cheng, S., Zhan, X., Lü, X., Xia, X., & Shi, C. (2023). Synergistic bactericidal effect of ultrasound combined with citral nanoemulsion on *Salmonella* and its application in the preservation of purple kale. *Ultrasonics Sonochemistry*, 92, 106269.
- Yuan, S., Li, C., Zhang, Y., Yu, H., Xie, Y., Guo, Y., & Yao, W. (2021). Ultrasound as an emerging technology for the elimination of chemical contaminants in food: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 109, 374-385.
- Yüksel, F. (2013). Gıda teknolojisinde ultrasases uygulamaları. *Gıda Teknolojileri Dergisi*, 8 (2), 29-38.
- Zhang, H., Tsai, S., & Tikekar, R. V. (2021). Inactivation of *Listeria innocua* on blueberries by novel ultrasound washing processes and their impact on quality during storage. *Food Control*, 121, 107580.
- Zinoviadou, K. G., Galanakis, C. M., Brnčić, M., Grimi, N., Boussetta, N., Mota, M. J., Saraiva, J. A., Patras A., Tiwari, B., & Barba, F. J. (2015). Fruit juice sonication: Implications on food safety and physicochemical and nutritional properties. *Food Research International*, 77 (4), 743-752.

**KARAHİNDİBANIN (*TARAXACUM OFFICINALE*) DİYABETLİ RATLARIN KARACİĞER DOKUSUNDA KATALAZ SALINIMI ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**  
**INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF DANDELION (*TARAXACUM OFFICINALE*) ON CATALASE RELEASE IN LIVER TISSUE OF DIABETIC RATS**

**Şükran YEDİEL ARAS<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Kafkas Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Ebelik Bölümü, Kars, Türkiye.*

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3267-5251>

**Ebru KARADAĞ SARI<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>*Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embryoloji Anabilim Dalı, Kars, Türkiye.*

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7581-6109>

**ÖZET**

Bu çalışma Karahindiba (*Taraxacum Officinale*) uygulamasının deneysel diyabet oluşturulan ratların karaciğer dokusunda meydana getirdiği değişimleri ve antioksidan enzimlerden olan katalaz salınımı üzerindeki etkilerini immunohistokimyasal yöntemlerle ile değerlendirmek amacı ile yapıldı. Çalışmada 28 adet 3 aylık erkek *Sprague Dawley* rat kullanıldı. Her bir grupta 7 rat olacak şekilde (kontrol, karahindiba, diyabet, diyabet+karahindiba grubu) 4 grup oluşturuldu. Deneysel diyabet oluşturmak için Streptozotosin (STZ) 50 mg/kg intra peritoneal olarak uygulandı. STZ uygulamasından 72 saat sonra 8 saat aç bırakılan ratların kan glukoz seviyeleri ölçüldü ve glukoz seviyeleri 200 mg/dL düzeyinde olanlar çalışmaya dahil edildi. Çalışma sonunda karaciğer dokuları alınarak histolojik ve immunohistokimyasal incelemeler için rutin doku takibi işlemlerinden geçirildi ve parafinde bloklandı. Parafin bloklardan alınan kesitlere karaciğer dokusunun genel yapısını incelemek amacı ile Crossman'ın üçlü boyaması (Triple Boyama) ve Hematoksilen- eozin boyamaları yapıldı. Katalaz immunoreaktivitesinin belirlenmesi için ise immunohistokimyasal yöntemler uygulandı. Kontrol ve karahindiba gruplarında karaciğer dokusunun normal histolojik yapıda olduğu tespit edildi. Diyabet grubunda sinozoidlerde genişleme, hiperemi ve hepatositlerde nekroz olduğu belirlendi. Diyabet+karahindiba grubunda hepatositlerde düşük derecede nekroz olduğu görüldü. Kontrol ve karahindiba gruplarında hepatositlerin sitoplazmasında kuvvetli, diyabet grubunda zayıf, diyabet+karahindiba grubunda orta derecede katalaz immunoreaktivitesi tespit edildi. Katalaz immunoreaktivitesi pozitif hücrelerin sayısı; her bir gruptan rastgele 5 lam seçilip her bir lam üzerindeki 4 alandan yani toplamda 20 alandan yapılarak gruplar arasında karşılaştırıldı. Yapılan değerlendirmede immunoreaktivite pozitif olan hücrelere sayısı bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu belirlendi. Sonuç olarak kronik metabolik bir hastalık olan diyabet hastalığında karaciğer dokusunda histopatolojik değişimlerin meydana geldiği ve katalaz immunoreaktivitesinin azaldığı belirlendi. Karahindiba uygulamasının azalmış olan katalaz immunoreaktivitesi üzerinde olumlu etkileri olabileceği kanısına varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Diyabet, karaciğer, karahindiba, katalaz

**ABSTRACT**

The study was conducted in order to evaluate the changes caused by dandelion (*Taraxacum Officinale*) application in the liver tissue of rats with experimentally induced diabetes and its effects on the release of catalase, which is one of the antioxidant enzymes, through immunohistochemical methods. In the study, 28 3-month-old male *Sprague Dawley* rats were used. 4 groups with 7 rats in each group were formed as control, dandelion, diabetes, and diabetes+dandelion groups. In order to induce diabetes experimentally, Streptozotocin (STZ) 50 mg/kg was administered intraperitoneally. 72 hours after STZ administration, blood glucose levels of the rats, which were not fed for 8 hours, were measured., and those with glucose levels of 200 mg/dL were included in the study. At the end of the study, liver tissues

were taken, and they were processed through routine tissue follow-up for histological and immunohistochemical examinations and were blocked in paraffin. In order to examine the general structure of the liver tissue, the sections taken from paraffin blocks were stained with Crosmann's triple staining and hematoxylin-eosin staining. In order to determine catalase immunoreactivity, immunohistochemical methods were applied. It was determined that the liver tissue had normal histological structure in the control and dandelion groups. In the diabetes group, expansion in sinusoids, hyperemia, and necrosis in hepatocytes were detected. Low-degree necrosis was seen in hepatocytes in the diabetes-dandelion group. High-degree catalase immunoreactivity in the cytoplasm of hepatocytes in the control and dandelion groups, low-degree catalase immunoreactivity in the diabetes group, and moderate-degree catalase immunoreactivity in the diabetes+dandelion group were determined. Catalase immunoreactivity positive cell count was performed by randomly selecting 5 laminae from each group on 4 areas on each lamina, that is, on 20 areas in total, and they were compared between the groups. In the evaluation made, it was determined that there was a significant difference between the groups in terms of immunoreactive positive cell count. As a result, it was determined that histopathological changes occurred in the liver tissue and catalase immunoreactivity decreased in diabetes, which is a chronic metabolic disease. It was concluded that dandelion application could have positive effects on decreased catalase immunoreactivity.

**Keywords:** Diabetes, liver, dandelion, catalase

## 1. GİRİŞ

Diabetes mellitus (DM), sistemik seyreden ve kronik komplikasyonları olan metabolik bir hastalıktır. Dünya genelinde 2019 yılı itibari ile 463 milyon kişinin diyabet hastası olduğu tahmin edilmektedir. Bu sayı dünya nüfusunun yaklaşık %9,3'üne karşılık gelmektedir (Saeedi et al., 2019). Diyabetin her geçen gün daha fazla insanı etkileyeceği ve diğer kronik hastalıklarla birlikte sağlık sistemlerinin sürdürülebilirliğini tehdit etmeye devam edeceği bilinmektedir. Bu nedenle Birleşmiş Milletler (BM) Genel Kurulu 2006 yılında bulaşıcı olmayan bu hastalık için tarihi bir karar almış ve diyabeti küresel bir tehdit olarak kabul ederek tüm ülkelere bu hastalıkla ortak mücadele edilmesi gerektiği mesajını vermiştir (United Nations: World Diabetes Day, 2023). Dünya genelinde de diyabetin önlenmesine yönelik çalışmalar devam etmekte olup, 2013 Dünya Sağlık Asamblesinde diyabetin de içinde bulunduğu "Bulaşıcı Olmayan Hastalıkların Önlenmesi ve Kontrolüne ilişkin 2013-2020 Küresel Eylem Planı"nın onaylamıştır (Bulaşıcı olmayan hastalıkların önlenmesi ve kontrolüne ilişkin küresel eylem planı 2013-2020, 2023).

*Taraxacum* cinsine ait bitkilerden biri olan karahindiba, *Asteraceae* ailesinin üyesidir. Uzun yıllardan beri şifalı bitki olarak kullanılmıştır (Anonim, 2020). Türkiye, İran, Afganistan ve Batı Himalayalar bu türün en yaygın bulunduğu bölgeler arasındadır (Özenirler et al. 2018) Kullanım alanı bakımından çok eski bir geçmişe sahip olan karahindiba Arap doktorları tarafından karaciğer ve dalak rahatsızlıklarında (Sarı et al., 2020) kullanılmasının yanı sıra Çin tıbbında geleneksel olarak genelde başka bitkilerle karıştırılarak üst solunum yolu enfeksiyonlarının önlenmesinde, hepatit, bronşit ve pnömonide kullanılmıştır (Schütz et al., 2006, Martinez et al., 2015).

Katalaz (CAT): mitokondri ve peroksizomda lokalize olan, kloroplastta bulunmayan, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi suya ve oksijene dönüştürerek vücudu temizleyen antioksidan bir enzimdir (Singh et al., 2009). Katalaz özellikle organizmanın aerobik hücrelerinde dolayısıyla eritrositlerde ve karaciğerde bulunmaktadır. İskelet kasları, kalp ve beyin de düşük miktarda da olsa CAT içermektedir (Garewal, 1997).

Bu çalışma, Karahindiba (*Taraxacum Officinale*) uygulamasının deneysel diyabet oluşturulan ratların karaciğer dokusunda meydana getirdiği değişimleri ve antioksidan enzimlerden katalaz salınımı üzerindeki etkilerini immunohistokimyasal yöntemlerle ile ortaya koymayı amaçlamaktadır.

## 2. MATERYAL ve METOD

### Materyal

Çalışma için Kafkas Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (Karar No: KAÜ HADYEK/2022-146).Çalışmada 28 adet 3 aylık erkek *Sprague Dawley* rat kullanıldı. Ratlar 22 ±

2°C ortam sıcaklığında, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda standart kafeslerde barındırıldı ve *ad-libitum* olarak beslendi. Çalışma, Uluslararası Helsinki Bildirgesi ilkelerine uygun şekilde gerçekleştirildi.

### Metod

Çalışmada her bir grupta 7 rat olacak şekilde aşağıdaki gibi 4 grup oluşturuldu.

1.Kontrol Grubu ( $n=7$ ): Herhangi bir uygulama yapılmadı.

2. Karahindiba Grubu ( $n=7$ ): Bu gruptaki ratlara 2.4 g/kg karahindiba ekstraktı oral gavaj yolu ile 14 gün boyunca uygulandı.

3. Diyabet Grubu ( $n=7$ ): Bu gruptaki ratlara Streptozotosin (STZ) (50 ml sitrik asit + 40 ml disodyum hidrojen fosfat tampon çözeltisinde çözdürüldü ve pH: 4.5 olarak ayarlandı) 50 mg/kg i.p. olarak tek doz uygulandı.

4.Diyabet+Karahindiba Grubu ( $n=7$ ): Bu gruptaki ratlara Streptozotosin (STZ) (50 ml sitrik asit + 40 ml disodyum hidrojen fosfat tampon çözeltisinde çözdürüldü ve pH: 4.5 olarak ayarlandı) 50 mg/kg i.p. olarak tek doz uygulandı ve diyabet oluşturulduktan sonra 2.4 g/kg Karahindiba ekstraktı oral gavaj yolu ile 14 gün boyunca uygulandı.

Çalışma sonunda karaciğer dokuları alınarak histolojik ve immunohistokimyasal incelemeler için %10'luk formol solüsyonunda tespit edildi. Daha sonra rutin histolojik doku takibi işlemlerinden geçirilerek parafinde bloklandı.

### Kan glukoz seviyelerinin belirlenmesi

Çalışmaya başlamadan önce (1. gün) 8 saat aç bırakılan hayvanların kuyruk veninden açlık kan glukoz seviyelerinin belirlenmesi için kan örnekleri glukometre (Yasee, GLM-76, Taiwan) kullanılarak alındı. STZ uygulamasından 72 saat sonra 8 saat aç bırakılan ratların kan glukoz seviyeleri ölçüldü ve glukoz seviyeleri 200 mg/dL düzeyinde olanlar çalışmaya dahil edildi.

### Histolojik incelemeler

Parfin bloklardan alınan kesitlere karaciğer dokusunun genel yapısını incelemek amacı ile Crossman'ın üçlü boyama tekniği (Triple Boyama) ve Hematoksilen- eozin boyamaları uygulandı.

### İmmunohistokimyasal incelemeler

Krom alüm jelatin ile kaplanmış lamlara 5 µm kesitler alındı ve Streptavidin-biotin peroksidaz yöntemi kullanıldı. Kesitler rutin deparafinizasyon ve rehidrasyon işlemlerinden sonra PBS (0,1 M, PH, 7,2)'de çalkalanarak 0,1 M'lik PBS'te hazırlanmış %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>' de 15 dk. inkübe edildi. Sonrasında sitrat buffer solüsyonu içinde 10 dk mikrodalga fırında maksimum sıcaklıkta kaynatıldı. Daha sonra Large Volume Ultra V Block solüsyonu ile 10 dk inkübe edildi. Kesitlerin üzerine Katalaz (sc-271358) primer antikoru eklendi (1/500 dilüsyon) ve oda sıcaklığında, nemli ortamda 1 saat bekletildi. Kesitler PBS ile yıkanıp üzerine sırası ile Biotinylated Goat Anti B Polyvalent ve Streptavidin Peroxidase solüsyonları damlatılıp oda ısısında 30'ar dk. süre ile inkübe edildi. Kromojen uygulaması için DAB-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Diaminobenzidine hydrogen peroxide) Substrate Solution eklendi ve zıt boyama için modifiye Gill III hematoksilen solüsyonu kullanıldı. Hazırlanan preparatlar araştırma mikroskopunda incelenerek fotoğrafları çekildi. İmmunoreaktivitenin spesifik olup olmadığını belirlemek amacıyla, primer antikor ilave edilmeksizin (negatif kontrol) PBS'de tutulan kesitlere diğer işlemler aynen uygulandı. İmmunohistokimyasal değerlendirme hedef hücrelerin, boyanma özelliğine ve boyanan hedef hücrelerdeki boyanma yoğunluğuna bakılarak yapıldı. Değerlendirme iki bağımsız gözlemci tarafından boyanmama (0), zayıf boyanma (1), orta şiddette boyanma (2), kuvvetli boyanma (3) özelliklerine göre 0'dan 3'e kadar değerler verilerek yapıldı. Katalaz immunoreaktivitesi pozitif hücreler image-j software programı kullanılarak sayıldı. Hücre sayımı; her bir gruptan rastgele 5 lam seçilerek, her bir lam üzerindeki 4 alandan yani toplamda 20 alandan yapılarak gruplar arasında karşılaştırıldı.

### İstatistiksel değerlendirmeler

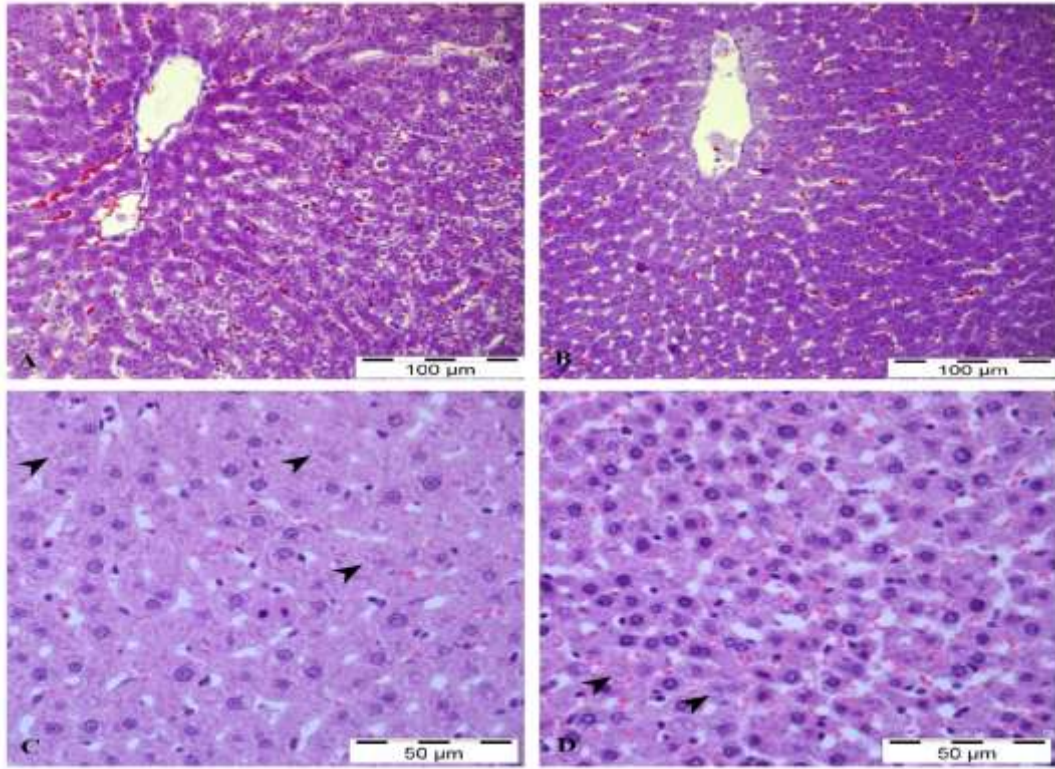
Hücre sayımlarının değerlendirilmesinde SPSS (20.0) paket programı kullanıldı. Gruplar arasındaki farklılıkları belirlemek için One Way ANOVA testi yapıldı. Önemli çıkan gruplar arasındaki farklılıkları

karşılaştırmak için ise Duncan Testi kullanıldı. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma (SD) ve medyan (min-maks) olarak ifade edildi. P değerleri  $<0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

### 3. BULGULAR

#### Histolojik Bulgular

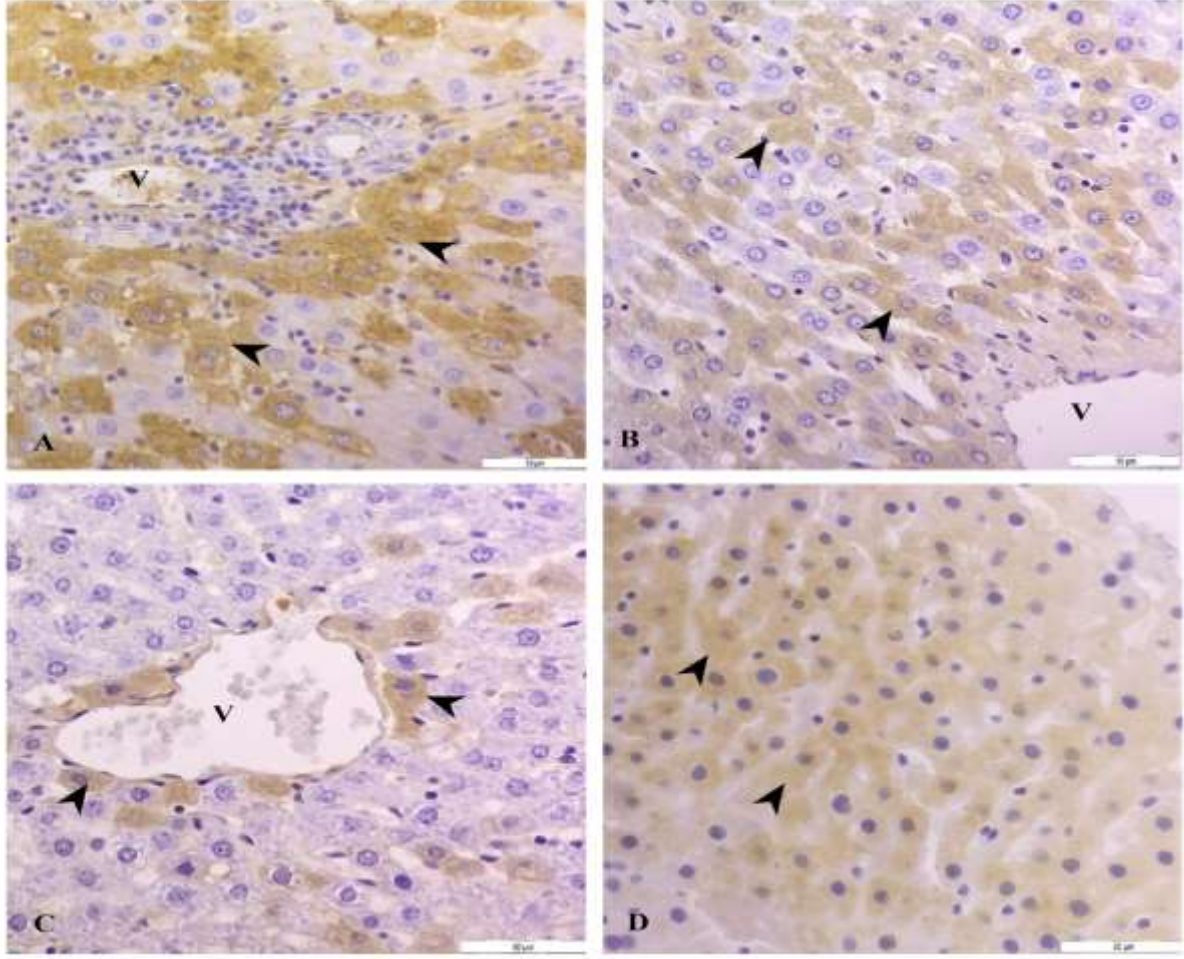
Kontrol ve karahindiba gruplarında karaciğer dokusunun normal histolojik görünümde olduğu belirlendi. Diyabet grubunda sinozoidlerde genişleme, hiperemi ve hepatositlerde nekroz olduğu görüldü. Diyabet+karahindiba grubunda hepatositlerde düşük derecede nekroz olduğu tespit edildi (Resim 1).



**Resim1.** Rat karaciğer dokusu. A: Kontrol grubu, B: Karahindiba grubu, C: Diyabet grubu, D: Diyabet+karahindiba grubu. A, B: Triple boyama, C,D: Hematoksilen- eozin boyama. Ok başı: hepatositlerde nekroz.

#### İmmünohistokimyasal Bulgular

Kontrol ve karahindiba gruplarında hepatositlerin sitoplazmasında kuvvetli, diyabet grubunda zayıf, diyabet+karahindiba grubunda orta derecede katalaz immunoreaktivitesi tespit edildi (Resim 2).



**Resim 2.** Rat karaciğer dokusunda katalaz immunoreaktivitesi. A: Kontrol grubu, B: Karahindiba grubu, C: Diyabet grubu, D: Diyabet+karahindiba grubu. Vena sentralis (V), Hepatositler (ok başı).

#### İstatistiksel Bulgular

Katalaz immunoreaktivitesi pozitif olan hücre sayılarının gruplar arası karşılaştırmasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu belirlendi ( $p<0.05$ ). Diyabet grubunda kontrol grubuna göre immunoreaktivite pozitif olan hücre sayılarının azaldığı, diyabet+karahindiba grubunda ise istatistiğe yansımamış olsa da arttığı tespit edildi (Tablo 1).

**Tablo 1.** Katalaz immunoreaktivitesi pozitif olan hücre sayılarının gruplar arası karşılaştırması.

Gruplar	Bölge Sayısı	Ortalama	p
Kontrol	20	57,6±15,85 <sup>a</sup>	0,001
Karahindiba	20	50±18,37 <sup>a</sup>	
Diyabet	20	20,2±9,09 <sup>b</sup>	
Diyabet+karahindiba	20	30,4±4,15 <sup>b</sup>	

<sup>a,b</sup> Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ( $p<0,05$ ).

#### 4. TARTIŞMA

Diyabet hastalığında karaciğerde hem yapısal hem de fonksiyonel bozukluklar meydana gelir ve sonuç olarak da glikojen ve lipid metabolizması etkilenir (Levinthal & Tavill, 1999, Sanchez et al., 2000). Diyabet nedeni ile karaciğer başta olmak üzere birçok organda oksidatif stresin arttığı, hepatositlerde şişkinlik, kromatin yoğunlaşması, apoptotik cisimcikler ve nekroz oluşumu belirlenmiştir (Tolman et al., 2007, Manna et al., 2010). STZ ile diyabet oluşturulan ratlarda karaciğer dokusunda hepatositlerde

dejenerasyon ve nekroz, portal alanlarda yangısal hücre infiltrasyonu, fibrozis ve safra kanalı hiperplazisi görüldüğü bildirilmiştir (Yaman & Doğan, 2016). Karahindibanın karaciğerde lipid birikimini önemli düzeyde engellediği, insülin direncini azalttığı, alkolsüz yağlı karaciğer hastalığının önlenmesi ve tedavisinde olumlu etkileri olduğu ifade edilmektedir (Davaatseren et al., 2013). Karahindiba kullanımının diyabetik ratlarda lipid metabolizmasının düzenlenmesine, lipid peroksidasyonu ve serbest radikallerden kaynaklanan diyabet komplikasyonlarının önlenmesine katkı sağladığı öne sürülmektedir (Cho et al., 2002). Çalışmamızda DM grubu ratların karaciğer dokusunda sinüzoidal genişleme ve hipereminin yanında bazı alanlarda hepatositlerde nekroz gözlendi. DK grubu hepatositleri DM grubu hepatositlerle karşılaştırıldığında daha düşük düzeyde nekrotik değişikliklerin olduğu dikkat çekti. Çalışmamızda gözlenen değişiklikler ve literatür bilgileri de göz önünde bulundurulduğunda karahindiba kullanımının karaciğerde diyabetin neden olduğu yapısal hasarlara karşı koruyucu olabileceğini düşündürmektedir.

Antioksidanlar oksidanları inaktif hale getiren maddelere denir. Sağlıklı bireylerde serbest radikaller ile antioksidanlar denge halindedir. Diyabette ise bu denge serbest radikaller lehine bozulmuştur (Memisogullari et al., 2003, Memişoğulları & Bakan, 2004). Antioksidan enzim aktiviteleri ile ilgili çalışmalarda serbest oksijen radikallerinin detoksifikasyonunda görevli iki enzimin; süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT)'ın enzim aktivitelerinin diyabet hastalığında azaldığını göstermektedir. Bu durum diyabette meydana gelen oksidatif hasar sonucu oluşan enzim inaktivasyonun göstergesidir. Diyabette oksidatif değişimlerin meydana geldiği düşünülmekte ve dokulardaki antioksidan enzim aktivitesi değişikliklerinin buna neden olabileceği öne sürülmektedir. Oksidatif strese, organizmanın antioksidan savunma sistemini oluşturan enzimlerin adaptif cevap ile uyarıldıkları, oksidatif strese karşı enzim inaktivasyonu meydana geldiği ve diyabetli hastalarda katalaz düzeylerinin azaldığı belirtilmiştir (Kakkar et al., 1995, Abou-Seif & Youssef, 2004, Seven et al., 2004, Komosin'ska-Vassev et al., 2005). Katalaz; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'den hidroksil (OH<sup>-</sup>) serbest radikali oluşumunu önleyerek antioksidan etki gösterir. Tip 2 diyabetli hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada diyabetli hastaların serum katalaz aktivitesinin arttığı bildirilmektedir. Bu artışın organizmanın kendisini lipid peroksidasyonundan korumak için dengeleyici bir mekanizma olabileceği ifade edilmiştir (Memisogullari et al., 2003). Yapılan değerlendirmelerde kontrol grubu ratların karaciğer dokusunda kuvvetli, diyabet grubunda ise zayıf katalaz immunoreaktivitesi belirlendi. İmmunoreaktivite pozitif olan hücre sayılarının istatistiksel değerlendirmesinde gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edildi. Diyabet grubu ratların karaciğer dokusunda immunoreaktivite pozitif olan hücrelere sayılarının kontrol grubuna göre azaldığı gözlendi.

Karahindiba köklerinde karbonhidrat (örneğin inülin), karotenoid (örneğin lutein), yağ asitleri (örneğin miristik asit), mineraller, şekerler (örneğin glikoz, fruktoz ve sakaroz), kolin vitaminleri, müsilaj ve pektin içeren bir bitkidir. Köklerinin %45'i, gastrointestinal sistemdeki patojenlerin ortadan kaldırılması, obezite, kanser ve osteoporozun baskılanması gibi birçok yararlı etkiye sahip kompleks bir karbonhidrat olan inülinde oluşur (Roberfroid, 1999). Karahindiba köklerinin yanı sıra yaprak özlerinin kullanımının da obezite ve kardiyovasküler hastalıklara karşı olumlu etkileri olmaktadır (Choi et al., 2010). Ayrıca pankreatik β-hücrelerinde insülin salınımını uyarak hipergliseminin olumsuz etkilerini önleyebileceği bildirilmektedir (Hussain et al., 2004). Çalışmamızda diyabet+karahindiba grubu ratların karaciğer dokusunda hepatositlerin sitoplazmasında orta derecede katalaz immunoreaktivitesi tespit edildi. Sonuçlarımız karahindiba kullanımının diyabette katalaz düzeylerinin artmasında olumlu katkı sağlayacağını düşündürdü.

Sonuç olarak doğal kaynaklı tedavi yöntemleri yan etkilerinin azlığı ve ucuz oluşu nedeni ile gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerin birçoğunda popülerlik kazanmaktadır. Kullanılan birçok geleneksel ilacı; şifalı bitkiler, mineraller ve organik maddelerden üretildiği bilinmektedir. Dünya üzerinde diyabet ve diyabete bağlı komplikasyonların sıklığı ve ölüm oranlarının yüksekliği bu hastalığın tedavisinin önemini de arttırmaktadır. Bu anlamda karahindiba bitkisinin kök ve yapraklarından elde edilen özlerinin günümüzde birçok hastalığın tedavisinde olumlu etki gösterebileceği öne sürülmüştür. Çalışmamızda karahindiba uygulamasının diyabetli ratların karaciğer dokusunda katalaz immunoreaktivitesini arttırdığı belirlendi. Histolojik ve immunohistokimyasal bulgularımız birlikte değerlendirildiğinde karahindiba kullanımının diyabette azalmış olan katalaz düzeylerine olumlu etki sağlayabileceği, buna bağlı olarak da diyabet hastalığının tedavisinde doğal bir tedavi kaynağı olarak kullanılabilmesi sonucuna varıldı.

**5. KAYNAKLAR**

1. Saeedi, P., Petersohn, I., Salpea, P., Malanda, B., Karuranga, S., Unwin, N., Colagiuri, S., Guariguata, L., Motala, A. A., Ogurtsova, K., Shaw, J. E., Bright, D., & Williams, R. (2019). Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 157, 107843.
2. United Nations: World Diabetes Day. <https://www.un.org/en/observances/diabetes-day#:~:text=In%202007%20General%20Assembly%20adopted,and%20health%2Dcare%20education.%E2%80%9D> Accessed February 20, 2023.
3. Bulaşıcı olmayan hastalıkların önlenmesi ve kontrolüne ilişkin küresel eylem planı 2013-2020. [https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/yayinlar/Kitaplar/KuRESEL\\_EYLEM\\_PLANI\\_-\\_2013-\\_2020.pdf](https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/yayinlar/Kitaplar/KuRESEL_EYLEM_PLANI_-_2013-_2020.pdf) Erişim tarihi 20.02.2023.
4. Anonim. (2020). TÜBİVES (Türkiye Bitkileri Veri Servisi). Erişim tarihi: 30.04.2020
5. Özenirler, Ç., Mayda, N., Çelemlı, Ö. G., Özkök, A., & Sorkun, K. (2018). Karahindiba balı: Türkiye monofloral balları için yeni bir kayıt. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 18(2), 87-93.
6. Sarı, A., Özsoy, N., & Karahüseyin, S. (2020). *Taraxacum farinosum* Hausskn. & Bornm. bitkisinin antioksidan aktivite yönünden incelenmesi. *Sağlık Bilimlerinde İleri Araştırmalar Dergisi*, 3(1), 13-19.
7. Schütz, K., Carle, R., & Schieber, A. (2006). *Taraxacum*--a review on its phytochemical and pharmacological profile. *Journal of Ethnopharmacology*, 11,107(3),313-23.
8. Martinez, M., Poirrier, P., Chamy, R., Prüfer, D., Schulze-Gronover, C., Jorquera, L., & Ruiz, G. (2015). *Taraxacum officinale* and related species-An ethnopharmacological review and its potential as a commercial medicinal plant. *Journal of Ethnopharmacology*, 169 (1), 244-262.
9. Singh, B.K., Sharma, S.R., & Singh, B. (2009). Combining ability for superoxide dismutase, peroxidase and catalase enzymes in cabbage head (*Brassica oleracea* var. capitata L.). *Scientia Horticulturae*, 122, 195–199.
10. Garewal, H.S. (1997). Antioxidants and disease prevention. Florida: CRC Press LLC, 3-19.
11. Levinthal, G. N., & Tavill, A. S. (1999). Liver disease and diabetes mellitus. *Clinical Diabetes*, 17(2),73–81.
12. Sanchez, S.S., Abregu, A.V., Aybar, M. J., & Sanchez Riera, A. N. (2000). Changes in liver gangliosides in streptozotocin-induced diabetic rats. *Cell Biology International*, 24, 897–904.
13. Tolman, K.G., Fonseca, V., Dalpiaz, A., & Tan, M.H. (2007). Spectrum of liver disease in type 2 diabetes and management of patients with diabetes and liver disease. *Diabetes Care*, 30(3), 734-743.
14. Manna, P., Das, J., Ghosh, J., & Sil, P. C. (2010). Contribution of type 1 diabetes to rat liver dysfunction and cellular damage via activation of NOS, PARP, IkappaBalpha/NF-kappaB, MAPKs, and mitochondria-dependent pathways: Prophylactic role of arjunolic acid. *Free Radical Biology and Medicine*, 48,1465–1484.
15. Yaman, T., & Doğan, A. (2016). Streptozotosin ile Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda Meşe Palamudu (*Quercus branti Lindl.*) Ekstraktların Karaciğer ve Pankreası Koruyucu Etkileri. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1(2),7-15.
16. Davaatseren, M., Hur, H. J., Yang, H.J., Hwang, J.T., Park, J. H., Kim, H.J., Kim, M.J., Kwon, D. Y., & Sung, M. J. (2013). *Taraxacum officinale* (dandelion) leaf extract alleviates high-fat diet-induced nonalcoholic fatty liver. *Food and Chemical Toxicology*, 58,30–36
17. Cho, S.Y., Park, J.Y., Park, E.M., Choi, M.S., Lee, M.K., Jeon, S.M., Jang, M.K., Kim, M.J., & Park, Y.B. (2002). Alternation of hepatic antioxidant enzyme activities and lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats by supplementation of dandelion water extract. *Clinica Chimica Acta*, 317, 109–117.



18. Memisogullari, R., Taysi, S., Bakan, E., & Capoglu, I. (2003). Antioxidant Status and Lipid Peroxidation in Type II Diabetes Mellitus. *Cell Biochemistry and Function*, 21, 291-296.
19. Memişoğulları, R., & Bakan, E. (2004). Levels of ceruloplasmin, transferrin, and lipid peroxidation in the serum of patients with Type 2 diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 18, 193– 197.
20. Seven, A., Guzel, S., Seymen, O., Civelek, S., Bolayirli, M., Uncu, M., & Burcak, G. (2004). Effects of Vitamin E supplementation on oxidative stress in STZ induced diabetic rats: Investigation of Liver and Plasma. *Yonsei Medical Journal*, 45(4), 703-710.
21. Kakkar R. Kalra J. Mantha SV. & Prasad, K. (1995). Lipid peroxidation and activity of antioxidant enzymes in diabetic rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 151: 113-119
22. Abou-Seif, M. A., & Youssef, A. (2004). Evaluation of some biochemical changes in diabetic patients. *Clinica Chimica Acta* 346 (2004) 161–170
23. Komosińska-Vassey, K., Olczyk, K., Olczyk, P., & Winsz-Szczotka, K. (2005). Effects of metabolic control and vascular complications on indices of oxidative stress in type 2 diabetic patients. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 68, 207–216
24. Roberfroid, M.B. (1999). Concepts in functional foods: the case of inulin and oligofructose. *The Journal of Nutrition*, 129(7), 1398S1401S.
25. Choi, U. K., Lee, O.H., Yim, J. H., Cho, C.W., Rhee, Y. K., Lim, S.I., & Kim, Y.C. (2010). Hypolipidemic and antioxidant effects of dandelion (*Taraxacum officinale*) root and leaf on cholesterol-fed rabbits. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(1), 67-78.
26. Hussain, Z., Waheed, A., Qureshi, R.A., Burdi, D.K., Verspohl, E.J., Khan, N., & Hasan, M. (2004). The effect of medicinal plants of Islamabad and Murree region of Pakistan on insulin secretion from INS-1 cells. *Phytotherapy Research*, 18(1), 73-77.

**BAZI KETEN (*Linum usitatissimum* L.) ÇEŞİTLERİNDE GİBBERELLİK ASİT  
KONSANTRASYONLARININ ÇİMLENME VE ÇIKIŞ PERFORMANSI ÜZERİNE OLAN  
ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

**DETERMINATION OF THE EFFECTS OF GIBBERELIC ACID CONCENTRATIONS ON  
GERMINATION AND EMERGENCE PERFORMANCE OF SOME FLAX (*Linum  
usitatissimum* L.) VARIETIES**

**Şilan ÇİÇEK<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Zir. Yük. Müh., Dicle Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Diyarbakır, Türkiye.

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4486-7322>

**Nazlı AYBAR YALINKILIÇ<sup>2</sup>**

<sup>2</sup> Öğr. Gör., Muş Alparslan Üniversitesi, Uygulamalı Bilimler Fakültesi, Bitkisel Üretim ve Teknolojileri Bölümü, Muş, Türkiye.

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7462-775X>

**Sema BAŞBAĞ<sup>3</sup>**

<sup>3</sup>Prof. Dr., Dicle Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Diyarbakır, Türkiye.

<sup>3</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9324-5175>

**ÖZET**

Başarılı bir bitkisel üretimde tohum çimlenmesinin hızlı, homojen ve yüksek oranlarda oluşması için ekim öncesi bazı tohum uygulamalarından (priming) yararlanılmak önem arz etmektedir. Bu araştırma farklı gibberellik asit (GA<sub>3</sub>) dozlarına tabi tutulmuş keten tohumlarının çimlenme ve erken fide gelişimini incelemek amacıyla Dicle Üniversitesi Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (DUPTAM)'nde 2017 yılında yürütülmüştür. Araştırmada Sarı-85 ve McGregor keten çeşitleri materyal olarak kullanılmıştır. Deneme tesadüf parsellerinde faktöriyel deneme desenine göre üç tekerrürlü olarak kurulmuştur. 12 saat süreyle farklı seviyelerde (kontrol, 100, 250 ve 500 ppm) gibberellik asit (GA<sub>3</sub>)'e maruz kalan keten tohumları laboratuvar şartlarında çimlendirmeye bırakılarak canlılık oranları ile sera koşullarında fide gelişim özellikleri ele alınmıştır. Araştırmada, çimlenme hızı (%), çimlenme gücü (%), kök ve sürgün uzunluğu (cm), kök ve sürgün yaş ağırlığı (g/fide), parametreleri incelenmiştir. Araştırma sonucunda, McGregor çeşidinin Sarı-85 çeşidine nazaran tohum ve fide performansının daha iyi olduğu gözlemlenmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, 250 ppm ve 500 ppm GA<sub>3</sub> uygulamalarından en iyi sonuçlar elde edilmiştir. Çalışma sonuçları keten çeşitlerinde gibberellik asit uygulamalarının genel olarak çimlenme ve fide gelişmesi üzerinde olumlu etki yaptıklarını göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Çimlenme, gibberellik asit, keten (*Linum usitatissimum* L.), tohum ön uygulaması

**ABSTRACT**

For a successful plant production, it's important to benefit from priming applications for rapid, homogeneous and high rates of seed germination. This research was carried out at Dicle University Technology Application and Research Center in 2017 to examine the germination and early seedling growth of flax seeds treated with different gibberellic acid (GA<sub>3</sub>) doses. Two cultivars of flax (Sarı -85 and McGregor) were used as material of this research. The experiment was established in randomized plots according to the factorial design with three replications. Germination characteristics and seedling growth of flax seeds exposed to gibberellic acid (GA<sub>3</sub>) at different levels (control, 100, 250 and 500 ppm) for 12 hours were determined in laboratory and greenhouse conditions. In the study, some parameters were investigated such as germination rate (%), germination strength (%), root and shoot

length (cm), root and shoot fresh weight (g/seedling). It was observed that the germination and seedling performance of McGregor cultivar was better than the Sarı-85 cultivar. Compared to the control group, the best results obtained from 250 and 500 ppm GA<sub>3</sub> application. The results of the study were determined that gibberellic acid applications in flax varieties had a positive effect on germination and seedling growth.

**Keywords:** germination, gibberellic acid, flax (*Linum usitatissimum* L.), seed priming

## 1.GİRİŞ

Keten, ılıman iklimlerde yetiştirilen en eski endüstriyel tarla bitkileri arasında yer almaktadır. Yağlı tohum ve lif bitkisi olarak yetiştiriciliği yapılan keten (*Linum usitatissimum* L.) bitkisi 6000 yıldan fazla bir süredir insanlar tarafından kullanılmaktadır. Derin olmayan kazık kök sistemine sahip tek yıllık otsu bir bitkidir. Yağ amaçlı üretilen keten bitkilerinin boyları daha kısa, dallanma sayısı fazla ve çok sayıda tohum üretilmesi amaçlanırken, lif amaçlı keten türleri genellikle boyları daha uzun, dallanma sayısı az ve sapından lif üretilmektedir (Gill,1987).

Keten, çoğu hastalıkların önlenmesinde olumlu etkileri olan alfa-linolenik asit lignanlar ve polisakkaritler (nişasta dışında) içerdiğinden, fonksiyonel bir gıda veya fonksiyonel bileşenlerin kaynağı olarak kabul edilir (Bozan ve Temelli, 2008).

Keten (*Linum usitatissimum* L.), Kanada ve Çin başta olmak üzere dünyanın en önemli yağ bitkilerinden biridir. Keten tohumu %20-40 oranında yağ içerir. Keten tohumu yağı tipik bir kurutma yağıdır ve geçmişte boya, linolyum, vernik, mürekkep ve kozmetik üretimi gibi endüstriyel amaçlar için kullanılmıştır. Bununla birlikte, keten tohumu yağı, besin ve farmasötik değerleri nedeniyle popüler hale geliyor. Keten tohumu yağı, esansiyel yağ asitlerinden biri olan n-3 yağ asidi alfa linolenik asidin (ALA) en zengin kaynağı olarak bilinir (Carter 1993)

Bilimsel çalışmalar keten tohumu tüketimini desteklese de, birçok insan hala bu ürünün sağladığı faydalardan ve gıda maddelerinin üretimindeki olası uygulamalarından habersizdir. (Udenigwe et al., 2009). Yapay liflerin artan maliyeti, doğal keten lifinin avantajları, keten hasadında yeni teknoloji ve ekipmanların geliştirilmesi gibi nedenlerden keten yetiştiriciliğinin gelişmesi devam etmektedir.

Gelişmekte olan ülkelerde çiftçilerin karşılaştığı en önemli sorunlardan biri; toprakta çimlenme yüzdesinin düşmesine, heterojen çıkışa, dengesiz fide büyümesine ve ışık, besin ve su gibi çevresel kaynaklar için rekabete neden olan heterojenlik ve uygun koşulların olmamasıdır. Daha sonra bu durum, bir bitki türünün biyokütlesi ve performansında fark yaratır. (Roa and Philipse, 1993). Bu sorunu çözebilecek yöntemlerden biri, çimlenme olaylarını başlatmak için yeterli düzeyde su emilimini içeren priming adı verilen tohum ön uygulamaları işlemleridir. Tohum ön uygulamalarının amacı, çok geniş ve elverişsiz çevre koşullarında çimlenme yüzdesini artırmak, ortalama çimlenme süresini azaltmak ve fidenin büyüme ve canlılığını iyileştirmektir (Ellis and Roberts, 1981).

Tohum büyüklüğü ketende önemli bir özelliktir. Büyük tohumlar, çimlenmede üstün canlılık ve daha fazla verim kapasitesine dönüşen fide oluşumu gibi avantajlar sunar. Daha büyük tohumlu çeşitler, hasat ve tohum temizliği sırasında kayıplara daha az eğilimlidir. Embriyo nispeten daha büyük olduğu için daha büyük bir tohumda daha fazla yağ biriktirme potansiyeli vardır.

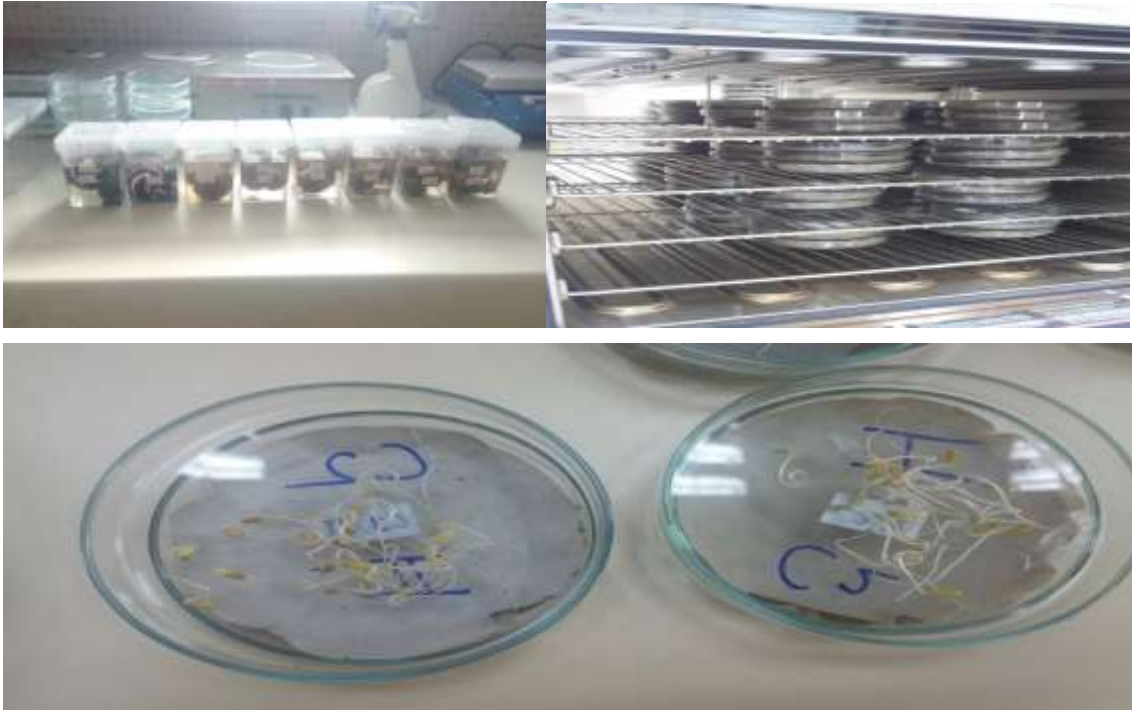
Mckenzie and Deyholos (2011), Gibberellik asit uygulamalarının keten tohumu kabuğunda kök uzamasına, genişlemesine, çoğalmasına ve hücre duvarı kalınlaşmasına neden olduğunu bildirmiştir. Emongor, 2007; Rastogi ve ark., 2013 GA<sub>3</sub>'in, meristematik dokularda hücre bölünmesini ve uzamasını hızlandırarak yeni hücre oluşumunu olumlu yönde etkilediğini ve sonuç olarak Gibberellik asit uygulamasının bitki büyümesi ve keten tohumu verimi üzerine olumlu etkisi olduğu bildirmiştir. Ayala-Silva, T et al., (2005) yaptıkları çalışmada, GA<sub>3</sub> ve IAA gibi bitki büyüme düzenleyicilerinin keten tohumunda uygulanmasının lif verimini artırabileceğini ve lif kalitesini değiştirebileceğini, 250 mg/L GA<sub>3</sub>'ün daha yüksek lif verimi ve daha iyi keten lifi kalitesi (inceliği) elde etmek için kullanılabilirliğini göstermiştir. Anu Rastogi et al., (2013) Ketende, tohum veriminin artırılması için oksin (1.0 mg L-1) ve gibberellin'in (200 mg L-1) karma dozunu tavsiye ederken, ekonomik açıdan önemli olan bu yağlı

tohum bitkisinde verimi arttırmak için bitki büyüme düzenleyicilerinin başarılı bir şekilde kullanılabileceği sonucuna varmıştır.

Tohum kalitesini arttırmak için birçok tohum ön uygulamaları çalışmaları yapılmıştır ancak keten tohumlarının çimlenme performansını iyileştirmek için çok az çalışma mevcuttur. Bu nedenle bu araştırma, farklı gibberellik asit konsantrasyonlarının ketenin tohum çimlenmesi ve fide çıkışı üzerine etkilerini değerlendirmek amacıyla yapılmıştır.

## 2.MATERYAL VE YÖNTEM

Araştırma, Dicle Üniversitesi Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (DUPTAM)'nde 2017 yılında yürütülmüştür. Çalışmada, yabancı orijinli tescilli "McGregor" ve yerli tescilli "Sarı-85" keten çeşitlerinin tohumları materyal olarak kullanılmıştır. Denemede tohum ön uygulamaları olarak 500 ppm, 250 ppm ve 100 ppm GA<sub>3</sub> dozları kullanılmıştır. Dozlar hazırlanırken %40'lık saf gibberellik asit oranı göz önünde tutulmuştur. 500 ppm'lik GA<sub>3</sub> hazırlamak için 1 paket ( 2,5 gr ) GA<sub>3</sub> 200 ml saf suda, 250 ppm'lik GA<sub>3</sub> hazırlamak için ½ paket (1,25 gr) GA<sub>3</sub> 200 ml saf suda, 100 ppm'lik GA<sub>3</sub> hazırlamak için ¼ paket ( 0.5 gr) GA<sub>3</sub> 200 ml saf suda çözülmüş ve solusyonlar hazırlanmıştır. Tohumlar hazırlanan priming konsantrasyonları içerisinde 12 saat süreyle bekletilmiş ve uygulama yapılmayan tohumlar kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Uygulama sonunda tohumlar saf sudan geçirildikten sonra çimlendirme denemelerine alınmıştır. Araştırma, tesadüf parsellerinde faktöriyel deneme desenine göre üç tekerrürlü ve her tekerrürde 30 adet tohum olacak şekilde olarak kurulmuştur. Denemede kullanılacak olan petri kapları ve pensler otoklavda steril edilerek tohumlara enfeksiyon bulaşması engellenmiştir. Çimlendirme ortamı olarak petri kapları ve kurutma kağıtları kullanılmış ve her petri kabında tohumların altına ve üstüne 2 adet filtre kağıdı konulmuştur. Çimlendirme denemeleri, petri kaplarında kurutma kağıtları arasında etüvde 25 °C süre bekletilerek yürütülmüştür. Her petriye 4 ml saf su eklenmiş ve kurutma kağıtlarının nemi sürekli kontrol edilmiştir. Daha sonra 25 °C'lik etüvde 14 gün süresince çimlendirmeye bırakılan tohumlarda canlılık oranları belirlenmiştir. Kökçük'ün (radikul) 2 mm'lik çıkışı çimlendirme kriteri olarak alınmıştır.



Şekil 1: Denemeye ait görseller

Figure 1. images of research

Çalışmada çimlenme hızı (%), çimlenme gücü (%), kök ve fide uzunluğu (cm), kök ve fide yaş ağırlığı (g/fide) özellikleri incelenmiştir. Çalışmada elde edilen değerler JMP istatistik paket programı ile analizi

yapılmış, elde edilen sonuçlar F testi analizi ile incelenerek; ortalamalar LSD % 5 testine göre gruplandırılmıştır.

### 3.BULGULAR VE TARTIŞMA

Farklı GA<sub>3</sub> dozlarının keten tohumları üzerine olan etkilerinin belirlendiği bu çalışmada, incelenen özellikler yönünden varyans analiz sonuçları ile çeşitler ve dozlar arasında istatistiki olarak önemli görülen farklılıklar aşağıdaki çizelgelerde verilmiştir.

**Çizelge 1.** Farklı GA<sub>3</sub> dozları uygulanan keten çeşitlerinde çimlenme hızı ve çimlenme gücüne ilişkin ortalama değerler ve LSD gruplandırması

**Table 1.** Mean values of germination rate and germination strenght and LSD grouping in flax cultivars treated with different GA<sub>3</sub> doses

GA <sub>3</sub> dozları (GA <sub>3</sub> Doses)/ Çeşitler (Cultivars)	Çimlenme hızı (%) Germination rate (%)			Çimlenme gücü (%) Germination strenght (%)		
	McGregor	Sarı-85	Ortalama Avg.	McGregor	Sarı-85	Ortalama (Avg.)
Kontrol (control)	39,99 b <sup>c</sup>	61,11 ab	50,55	21,11	16,66	18,88
100 ppm	38,99 bc	63,33 ab	51,16	45,55	10,22	27,89
250 ppm	72,22 a	38,88 bc	55,55	54,44	7,77	31,10
500 ppm	50,00 abc	26,66 c	38,33	34,44	4,44	19,44
Ortalama (Avg.)	50,30	47,49		38,88 a	9,77 b	
CV (%)	34,22			52,74		
LSD	Ç: -	D: -	Ç x D: 114,68*	Ç: 19,41**	D: -	Ç x D: -

\*\* ; % 1 ve \* ; % 5 seviyesinde önemlidir.

\*\* ; important at the 1% level, \* ; important at the 5% level.

Çizelge 1’de çimlenme hızı değerlerine bakıldığında, Çeşit x GA<sub>3</sub> dozları interaksyonu yönünden istatistiki olarak önemli (0.005 önem düzeyinde) bir fark olduğu anlaşılmıştır. 250 ppm GA<sub>3</sub> solusyonu uygulanan McGregor keten çeşidinde en yüksek çimlenme hızına (%72,22) rastlanmıştır. Yine aynı çizelgede görüldüğü üzere, çimlenme gücü yönünden çeşitler arasında istatistiki olarak önemli (0.001 önem düzeyinde) bir farklılık olduğu, McGregor keten çeşidinin (%38,88) Sarı-85 çeşidine oranla daha yüksek çimlenme gücüne sahip olduğu saptanmıştır.

**Çizelge 2.** Farklı GA<sub>3</sub> dozları uygulanan keten çeşitlerinde fide uzunluğu ve kök uzunluğuna ilişkin ortalama değerler ve LSD gruplandırması

**Table 2.** Mean values of root and shoot length and LSD grouping in flax cultivars treated with different GA<sub>3</sub> doses

GA <sub>3</sub> dozları (GA <sub>3</sub> Doses)/ Çeşitler (Cultivars)	Fide uzunluğu (mm) Shoot length (mm)			Kök uzunluğu (mm) Root length (mm)		
	McGregor	Sarı-85	Ortalama Avg.	McGregor	Sarı-85	Ortalama (Avg.)
Kontrol (control)	55,06	33,76	44,41	15,36	3,090	9,229 b
100 ppm	62,55	41,76	52,15	27,200	5,323	16,26 a
250 ppm	78,10	51,21	64,66	32,101	7,74	19,923 a
500 ppm	92,37	45,35	68,86	26,803	4,960	15,88 a
Ortalama (Avg.)	72,02 a	43,02 b		25,36 a	5,27 b	
CV (%)	37,56			31,22		
LSD	Ç: 55,02**	D: -	Ç x D: -	Ç: 2,69**	D: 5,39*	Ç x D: -

\*\* ; % 1 ve \* ; % 5 seviyesinde önemlidir.

\*\* ; important at the 1% level, \* ; important at the 5% level.

Çizelge 2’den, Fide uzunluğu değerleri incelendiğinde, çeşitler arasında istatistiki olarak önemli (0.001 önem düzeyinde) bir farklılık olduğu, McGregor çeşidinin 72,02 mm, Sarı-85 çeşidinin ise 43,02 mm fide uzunluğuna sahip olduğu gözlenmiştir. Kök uzunluğu değerleri incelendiğinde, çeşitler ve GA<sub>3</sub> dozları arasında istatistiki olarak önemli (sırasıyla 0.001 ve 0.005 önem düzeyinde) farklılıklar olduğu belirlenmiştir. McGregor çeşidinin kök uzunluğunun (25,36 mm) Sarı-85 çeşidinden (5,27 mm) daha yüksek olduğu, 250 ppm doz uygulamasının diğer dozlara nazaran kök uzunluğunu daha çok artırdığı saptanmıştır.

**Çizelge 3.** Farklı GA<sub>3</sub> dozları uygulanan keten çeşitlerinde fide yaş ağırlığı ve kök yaş ağırlığına ilişkin ortalama değerler ve LSD gruplandırması

**Table 3.** Mean values of root and shoot fresh weight and LSD grouping in flax cultivars treated with different GA<sub>3</sub> doses

GA <sub>3</sub> dozları (GA <sub>3</sub> Doses)/ Çeşitler (Cultivars)	Fide yaş ağırlığı (g) Shoot fresh weight (g)			Kök yaş ağırlığı (g) Root fresh weight (g)		
	McGregor	Sarı-85	Ortalama Avg.	McGregor	Sarı-85	Ortalama (Avg.)
Kontrol (control)	0,35 <sup>abc</sup>	0,15 <sup>c</sup>	0,25	0,020	0,002	0,011 <sup>c</sup>
100 ppm	0,63 <sup>a</sup>	0,12 <sup>c</sup>	0,38	0,046	0,029	0,038 <sup>bc</sup>
250 ppm	0,20 <sup>bc</sup>	0,42 <sup>abc</sup>	0,31	0,063	0,041	0,052 <sup>ab</sup>
500 ppm	0,36 <sup>abc</sup>	0,56 <sup>ab</sup>	0,46	0,120	0,047	0,083 <sup>a</sup>
Ortalama (Avg.)	0,38	0,31		0,062 <sup>a</sup>	0,030 <sup>b</sup>	
CV (%)	59,42			55,97		
LSD	Ç:	D:	Ç x D: 0,020*	Ç:0,00007**	D: 0,001**	Ç x D: -

\*\* ; % 1 ve \* ; % 5 seviyesinde önemlidir.

\*\* ; important at the 1% level, \* ; important at the 5% level.

Çizelge 3’ten, Fide yaş ağırlığı değerlerine bakıldığında, Çeşit x GA<sub>3</sub> dozları interaksyonu yönünden istatistiki olarak önemli (0.005 önem düzeyinde) bir fark olduğu anlaşılmıştır. 100 ppm GA<sub>3</sub> solusyonu uygulanan McGregor keten çeşidinde en yüksek fide yaş ağırlığına (0,63 g) rastlanmıştır. Yine aynı çizelgede görüldüğü üzere, kök yaş ağırlığı yönünden çeşitler ve GA<sub>3</sub> dozları arasında istatistiki olarak önemli (sırasıyla 0.001 ve 0.005 önem düzeyinde) farklılıklar olduğu, McGregor çeşidinin kök yaş ağırlığının (0,062 g) Sarı-85 çeşidinden (0,030 g) daha yüksek olduğu, 500 ppm GA<sub>3</sub> doz uygulamasının diğer dozlar ile kıyaslandığında kök yaş ağırlığı üzerinde daha olumlu bir etkisinin olduğu saptanmıştır.

#### 4.SONUÇ

Yapılan bu çalışmada, McGregor keten çeşidi Sarı-85 çeşidi ile kıyaslandığında tohum çimlenme performansının daha iyi olduğu ve bunun sonucu olarak da fide gelişimi yönünden üstünlük sağladığı belirlenmiştir. GA<sub>3</sub> konsantrasyonlarının etkilerine bakıldığında, kontrol grubuna kıyasla 250 ppm doz uygulamasından en iyi sonuçların alındığı ve bunu 500 ppm doz uygulamasının takip ettiği gözlemlenmiştir. Çalışma sonuçları keten çeşitlerinde gibberellik asit uygulamalarının genel olarak çimlenme ve fide gelişmesi üzerinde olumlu etki yaptıklarını göstermektedir.

#### 5.KAYNAKLAR

Anu Rastogi , Ameena Siddiqui , Brij K Mishra , Mrinalini Srivastava , Rawli Pandey , Pratibha Misra, Munna Singh and Sudhir Shukla 2013. Effect of auxin and gibberellic acid on growth and yield components of linseed (*Linum usitatissimum* L.). *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 13: 136-143, 2013 Brazilian Society of Plant Breeding. Printed in Brazil.

Ayala-Silva, Tomas, Danny Akin, Jonn Foulk and Roy B. Dodd .2005. Effect of two growth regulators on yield and fiber quality and quantity in flax (*Linum usitatissimum* L.). *Quarterly (Plant Growth Regulator Society of America)* 33(3):90-100.

Bozan, B., Temelli, F. 2008. Chemical composition and oxidative stability of flax, safflower and poppy seed and seed oils. *Bioresource Technol.* 99, 6354–6359.

- Carter, J.F. Potential of flaxseed and flaxseed oil in baked goods and other products in human nutrition. *Cereal Foods World* 1993, 38 (10), 753–759.
- Ellis, R. H. and E. H. Roberts. 1981. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. *Seed Sci. Tech.* 9:377-409.
- Emongor, V. (2007): Gibberellic acid (GA3) influence on vegetative growth, nodulation and yield of cowpea (*Vigna unguiculata* L.) Walp. – *Journal of Agronomy* 6: 509-517.
- Gill, K.S., 1987. Flax. Indian Council of Agricultural Research, New Delhi, India. 386 p.
- Jiao, S.-S.; Li, D.; Huang, Z.-G.; Zhang, Z.-S.; Bhandari, B.; Chen, X.D.; Mao, Z.-H. Optimization of supercritical carbon dioxide extraction of flaxseed oil using response surface methodology. *International Journal of Food Engineering* 2008, 4 (4), 1–17. CHARACTERISTICS OF FLAXSEED OIL 1295.
- Mckenzie RR and Deyholos MK (2011) Effect of plant growth regulators treatments on stem vascular tissue development in linseed (*Linum usitatissimum* L.). *Industrial Crops and Products* 34: 1119-1127.
- Rastogi, A., Siddiqui, A., Mishra, B. K., Srivastava, M., Pandey, R., Misra, P., Singh, M., Shukla, S. (2013): Effect of auxin and gibberellic acid on growth and yield components of linseed (*Linum usitatissimum* L.). – *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 13: 136-143.
- Roa, S. and W. Philipse. 1993. Effect of seed priming and soil residue on seeding emergence and forage production of Brassicas. *J. Sust. Agric.* 3:89-98.
- Udeniqwe, C., Lu, Y., Han, C., Hou, W., Aluko, R. 2009. Flaxseed protein-derived peptide fractions: Antioxidant properties and inhibition of lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in murine macrophages. *Food Chem.* 116, 277–284.
- Wu, M.; Li, D.; Wang, L.-J.; Zhou, Y.-G.; Brooks, M.S.-L.; Chen, X.D.; Mao, Z.-H. Extrusion detoxification technique on flaxseed by uniform design optimization. *Separation and Purification Technology* 2008, 61 (1), 51–59.
- Wang, Y.; Wang, L.-J.; Li, D.; Özkan, N.; Chen, X.D.; Mao, Z.-H. Effect of flaxseed gum addition on rheological properties of native maize starch. *Journal of Food Engineering* 2008, 89 (1), 87–92.

**FIRINCILIK ÜRÜNLERİNDE TEMİZ ETİKETLEME  
CLEAN LABELING OF BAKERY PRODUCTS**

**Görkem ÖZÜLKÜ**

<sup>1</sup>*Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye.*

<sup>1</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0495-5667>*

**ÖZET**

Son yıllarda tüketiciler, gıdaların üretim yöntemleri ve içerikleri hakkındaki bilgileri çok yakından takip etmektedirler. Bu yaklaşımları, daha az işlenmiş gıdaları ve olumsuz olarak algılanan bileşenleri içermeyen ürünleri ifade ettiği öne sürülen temiz etiketleme kavramını karşımıza çıkarmıştır. Dünya çapında yaygın bir şekilde tüketilen fırıncılık ürünlerinde temiz etiketleme, tüketici beklentilerini karşılamak için gıda sektörünü, bu alanda daha çok araştırma yapmaya teşvik etmiştir. Fırıncılık ürünlerinde katkı maddeleri, antioksidan ve antimikrobiyel amaçlarla kullanıldığı gibi hamur işleme özelliklerinin ve pişirme performansının iyileştirilmesi amacıyla da kullanılmaktadır. Ayrıca bazı katkı maddeleri, tekstür, renk ve duyu özellikleri geliştirmektedir. Bu katkı maddelerinden arındırılmış fırıncılık ürünü üretmek, araştırmacıları alternatif kaynaklar bulmaya veya un performansını minimal işleme ile artırmaya yönlendirmiştir. Bitkisel protein kaynaklarının, yağ ikame edicilerin ve alternatif kabartma ajanlarının bulunması ve fırıncılık ürünlerinde kullanılması başlıca yapılan araştırmalar arasındadır. Unların termal yöntemlerle veya fermentasyonla modifiye edilmesi de bu kapsamda yapılan araştırmalar olarak karşımıza çıkmaktadır. Bitkisel bazlı içeriklerin (bezelye, patates ve baklagil proteinleri gibi) formülasyonlara ilave edilmesi ile fırıncılık ürünlerinin hem besleyici özellikleri geliştirilmiş hem de temiz etiketleme yaklaşımına katkı sunulmuştur. Fırıncılık ürünlerinin ağız hissi ve aroma gibi duyu özelliklerinde, su tutma kapasitesi, yapı ve tekstür gibi fiziksel özelliklerinde büyük rolü olan yağın yerine pisilyum (karniyarik otu) gibi besinsel liflerin ve balmumu bazlı yağ jellerinin kullanılması da son yapılan çalışmalar arasındadır. Kabarma prosesi fırıncılık ürünlerinin tekstürel özelliklerinin oluşmasında etkilidir ve hızlı kabarmayı sağlaması açısından bisküvi ve kek gibi ürünlerde kimyasal kabartıcılar kullanılmaktadır. Kimyasal kabartıcıların genel olarak gaz oluşturma mekanizması, farklı bikarbonatların ve zayıf organik asit tuzlarının ısı ve su varlığında reaksiyon vermesinden ileri gelmektedir. Temiz etiketleme kapsamında, organik asitler yerine ekşi süt ve meyve sularının (limon ve üzüm suyu) kullanımı gibi alternatif kabartma prosesleri araştırılmaktadır. Bu çalışmada fırıncılık ürünlerinde temiz etiketleme kapsamında literatür değerlendirilmesi yapılmış ve bu kapsamda yapılan araştırmaların gelecekteki gıda formülasyonlarına ve proseslerine yön verdiği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** temiz etiketleme, fırıncılık ürünleri, alternatif katkıları, un modifikasyonu

**ABSTRACT**

Consumers have been paying close attention to information regarding the ingredients and processes of food in recent years. These approaches have introduced the concept of clean labeling, which is claimed to refer to minimally processed foods and products that do not contain negatively perceived ingredients. Clean labeling of bakery products, which are widely consumed around the world, has encouraged the food industry to conduct more research in this area to meet consumer expectations. Additives in bakery products are used for antioxidant and antimicrobial purposes as well as for improving dough handling properties and baking performance. Additionally, some additives improve texture, color and sensory properties. Producing a bakery product free of these additives has prompted researchers to find alternative sources or improve flour performance with minimal processing. Finding vegetable protein sources, fat replacers and alternative baking agents and using them in bakery products are among the main researches. Modification of flours by thermal methods or fermentation is also regarded as research conducted in this context. Both the nutritional properties of bakery products have been



improved and a contribution to the clean labeling approach has been made with the inclusion of plant-based ingredients (pea, potato, legume protein, etc.) into the formulations. The use of nutritional fibers such as psyllium and wax-based oil gels instead of fat, which has a great role in the sensory properties of bakery products such as mouthfeel and flavor, and physical properties such as water holding capacity, structure and texture, are among the recent studies. The leavening process is effective in the formation of the textural properties of bakery products and chemical leavening agents are used in products such as biscuits and cakes in order to provide rapid rising. The gas formation mechanism of chemical leavening agents is generally due to the reaction of different bicarbonates and weak organic acid salts in the presence of heat and water. Within the scope of clean labeling, alternative baking processes have been investigated, such as the use of sour milk and fruit juices (lemon and grape juice) instead of organic acids. In this study, a review of the literature has been conducted with regard to clean labeling for bakery products, and it was found that the studies conducted in this context provided guidance for future food formulations and processes.

**Keywords:** clean labeling, bakery products, alternative additives, flour modification

## 1. GİRİŞ

Günümüzde, gıdaların içinde ne olduğuna ve nasıl yapıldığına dikkat eden bir tüketici grubu vardır ve sayıları her geçen gün artmaktadır. Tüketicilerdeki bu farkındalık, gıda sektörünü ve gıda araştırmalarını, daha az işlenmiş ve olumsuz olarak algılanan bileşenleri içermeyen ürünleri üretmeye yöneltmiştir. Bu durum, resmi bir tanımı yapılmamasına rağmen 1980'li yıllarda "temiz etiket" kavramını gündeme getirmiştir (Asioli vd. 2017; Do Nascimento vd., 2018). En genel manada temiz etiketleme, kolay anlaşılabilen bir içerik listesine sahip, E-kodlu katkı maddelerini içermeyen, organik ve/veya minimum işleme teknikleri ile üretilmiş gıdaları kapsamaktadır (Edwards, 2013; Ingredion, 2014).

Temiz etiketleme yaklaşımı, Avrupa Birliği, Birleşik Krallık ve Amerika Birleşik Devletlerindeki ülkelerde daha yaygın olmakla birlikte son zamanlarda Latin Amerika ve Asya gibi ülkelere doğru ilerlemiştir. Avrupa'daki tüketiciler, temiz etiketin karar verme süreçlerinde önemli bir rol oynadığını belirtmişlerdir ve tüketicilerin temiz etiket talebi Birleşik Krallık'da %37, İspanya'da %58, Polonya'da %59, İtalya'da %65, Almanya'da %50 ve Fransa'da %46 olarak bildirilmiştir (Do Nascimento vd., 2018). Bu talep, gıda sektöründeki rekabeti ve araştırmaları artırmıştır. Gıda şirketleri doğal içeriklerden üretilen ürünleri ticarileştirmek için yeni stratejiler geliştirmek zorunda kalmıştır. Bu tür stratejiler, birçok bilim insanının çabalarını mevcut gıda ürünlerine daha temiz bir bileşim kazandıracak yeni süreçler ve formülasyon alternatifleri bulmaya yönlendirmiştir (Osborne, 2015; Do Nascimento vd., 2018; Polachini vd., 2022). Bu durum, özellikle bileşiminde birçok amaca istinaden kullanılan katkı maddelerini içeren fırıncılık ürünlerini de etkilemiştir.

Antioksidan ve antimikrobiyal amaçlar, hamur işleme özellikleri ve pişirme performansının iyileştirilmesi, tekstür, renk ve duyu özellikleri geliştirilmesi, fırıncılık ürünlerinde katkı maddelerinin kullanım nedenleridir. Fırıncılık ürünlerinde temiz etiketleme uygulamaları, bazı kısıtlamaları da beraberinde getirmiştir. Örneğin şekeri, yağı, koruyucuları ve emülgatörler gibi işlem yardımcıları azaltmak veya tamamen kaldırmak son üründe istenmeyen kalite ve raf ömrü problemlerine yol açmıştır. Bu sorunların üstesinden gelmek için araştırmacılar, her bir bileşenin son ürüne etkisini tek tek araştırmakta ve yerlerine ikame edebilecek alternatif katkı ve prosesler geliştirmektedirler (Busken 2015). Bu derlemede, katkı maddelerinden arındırılmış fırıncılık ürünü üretmek için kullanılan veya araştırılan alternatif kaynaklardan ve un performansını minimal işleme ile artırmaya yönelik geliştirilen modifikasyonlardan bahsedilmiştir.

## 2. ALTERNATİF KATKI MADDELERİ

Fırıncılık ürünleri, şeker, yağ, yumurta, lif, kabartıcı ajan ve undan oluşan ürünlerdir. Bir veya daha fazla işlevsel özellikteki bileşenin yerini, daha işlevsel bir yeni kaynak ile değiştirmek fırıncılık ürünlerinde temiz etiketleme kriterlerini karşılamanın bir yoludur. Bu kapsamda, yumurta bazlı protein kaynakları, bitkisel bazlı protein kaynakları ile, fırıncılık ürünlerinin besinsel özelliklerini artırmak veya fonksiyonel özelliklerini iyileştirmek amacıyla yer değiştirilebilir. Benzer şekilde, fırıncılık ürünlerinde

yağ veya doymuş yağ asidi miktarını azaltmak için emülsiyon ve gaz tutma özellikleri yüksek yağ ikame ediciler kullanılabilir. Ayrıca, havanın ürüne dahil edilmesi ve tutulması amacıyla kullanılan kimyasal kabartıcılar yerine alternatif kabartıcı ajanlar geliştirilebilir (Polachini vd., 2022).

## 2.1 Bitkisel Protein Kaynakları

Fırıncılık ürünleri, dünya çapında temel insan diyetinde yaygın olarak tüketilmesine rağmen, düşük protein içerikleri, önerilen günlük protein alımını ve bunun sonucunda ticarileşmelerini etkilemektedir. Besin değeri yüksek protein bileşenlerinin normal buğday unlu bir karışıma dahil edilmesi, bu tür ürünleri dengeli ve çeşitlendirilmiş bir amino asit profilini sağlaması açısından önerilmektedir. Ayrıca, bu yaklaşım su tutma kapasitesini ve son ürünün tekstürel özelliklerini geliştirmektedir.

Fırıncılık ürünlerinde, bezelye proteinleri, baklagil proteinleri ve patates proteinlerinin kullanımı son yıllarda giderek yaygınlaşmıştır. Bezelye proteinlerinin, yumurta ikamesi olarak, atıştırmalık gıdalar ve makarnada kullanılması aynı zamanda tekstürün iyileşmesine ve ürünün proteince zenginleşmesine olanak sağlamıştır (Tulbek vd., 2017). Millar vd. (2019), buğday ununun, kavrulmuş bezelye unu ile %30 oranında yer değiştirmesi, hamurun su absorpsiyon ve stabilite değerlerini, çimlendirilmiş ve hiçbir işlem uygulanmamış bezelye ununa göre artırdığını ve sadece buğday unlu ekmeğe yakın ekmeğin hacmi değerleri verdiğini bildirmiştir. Böylece buğday unlu ekmeğin protein içeriği %8,4'den %10,8'e artmıştır. Daha iyi emülsifiye edici özellikleri sayesinde acı bakla ve mercimek proteinleri, fırıncılık ürünlerine temiz etiketli bileşenler olarak dahil edilmektedirler (Berton-Carabin ve Schroën, 2019). Jarpa-Parra vd. (2017), mercimek proteinlerinin, vegan kek ürünlerinde, yumurta ve süt proteinlerinin yerini alabilecek bir alternatif olduğunu bildirmişlerdir. Patates proteinlerinin kullanımı ise glutensiz ekmeğin ve bisküvi ürünlerinde karşımıza çıktığı gibi dondurulmuş ekmeğin üretiminde de karşımıza çıkmaktadır (Lu vd., 2021; Giri ve Sakhale, 2019; Chen vd., 2023).

Alternatif bitkisel protein kaynaklarının fırıncılık ürünleri formülasyonunda, proteince zenginleştirme ve fonksiyonel özelliklerini geliştirme amacıyla kullanımına bir diğer örnek ise yumuşak buğday ununun (protein-%9), yumuşak buğday ununa göre daha yüksek protein içerikli (~%13,5) sert, kırmızı ve yazlık buğday unuyla ikame edilmesidir (Rahman ve Simsek 2020). Rahman ve Simsek (2020) %40 oranında doğal olarak yüksek protein içerikli sert, kırmızı ve yazlık buğday unu kullanımının ekmeğin üretimi için temiz etiketli hamur kuvvetlendirici olarak değerlendirmişlerdir.

## 2.2 Yağ İkame Ediciler

Yağlar, fırıncılık ürünlerinin besinsel ve teknolojik özelliklerini etkilemektedirler. Hamurun akışkanlaşmasını ve havanın hamura katılımını sağlarlar. Ağız hissi ve aroma gibi duyu özelliklerini geliştirirler. Fırıncılık ürünlerine yağ, bitkisel sıvı yağlar, yumurta sarısı, margarin ve tereyağı gibi katı yağ kaynaklarından sağlanır. Temiz etiketleme kapsamında bitkisel sıvı yağların üretiminde, transgenik olmayan kaynakların kullanılması ve soğuk sıkım gibi çözücü kullanılmayan işlemlerle elde edilmesi tavsiye edilmektedir. Tüketicilerin, özellikle hayvan refahını kapsayan tüm tedarik zincirine karşı giderek daha fazla talepte bulunması, benzer yaklaşımı yumurta içinde söz konusu yapmaktadır (Polachini vd., 2022).

Fırıncılık yağları (shortening) yüksek oranda doymuş yağ asidi içermelerinin bir sonucu olarak oda sıcaklığında katı halde bulunurlar. Bu durum kardiyovasküler hastalıklarla ilişkilendirilir. Doymuş yağ asitlerinin, doymamış yağ asitleri ile yer değiştirmesi, katı yağların, fırıncılık ürünlerinin hem reolojisi hem de son ürünün kalite özelliklerini etkilediği için zorlu bir iştir (Wilderjans et al. 2013). Bu durumun üstesinden gelmek için, balmumu bazlı yağ jelleri ve doymuş yağ asidi içeren yapılandırılmış emülsiyonlar geliştirilmiştir (Patel vd., 2020).

Temiz etiketleme kapsamında farklı emülsiyon tiplerinin araştırılmasının yanı sıra yeni hidrokolloid kaynaklarda araştırılmaktadır. Bu kapsamda pisilyumun (karnıyarık otu) kullanımı dikkat çekmektedir. Psyllium'un, %25 ikame ile ürün kabul edilebilirliğinde önemli bir fark olmaksızın, keklerdeki yağların yerini alacak potansiyel bir hidrokolloid olduğu bildirilmiştir (Belorio vd., 2019). Keklerdeki yağ içeriğini azaltmak için suda çözünen ve çözünmeyen diyet lifler araştırılmış ve çözünür liflerin daha iyi fizikokimyasal, duyu ve besinsel kalite sağladığı bildirilmiştir (Diez-Sánchez vd., 2018). Bunların dışında, yağ ikamesi olarak inulince zengin bileşenler, bezelye ve fasulye püreleri de kullanılmıştır (Colla vd., 2018;).

### 2.3 Kabartıcı Ajanlar

Fırıncılık ürünlerinde kabarma prosesi, bisküvi ve kek gibi ürünlerde kimyasal kabartıcılarla sağlanabilirken ekmekte maya (*Saccharomyces cerevisiae*) ve ekşi hamur gibi biyolojik yöntemlerle sağlanır. Kimyasal ajanlarla kabarma işlemi, farklı bikarbonatların ve asit tuzlarının su ve ısı varlığında reaksiyonu ile gaz oluşumundan (CO<sub>2</sub>) ileri gelmektedir. Kabarma ayrıca, bikarbonatlar ile laktik asit, sitrik asit ve tartarik asit gibi zayıf organik asitler arasındaki reaksiyonla da üretilebilir. Temiz etiketleme kapsamında, organik asitler yerine ekşi süt ve meyve sularının (limon ve üzüm suyu) kullanımı gibi alternatif kabartma prosesleri de mevcuttur (Bennion vd., 1997; Carullo vd., 2020).

Kabartma prosesinde, kimyasal ve biyolojik ajanların kullanılmasının yanı sıra pişirme işlemi sırasında suyun buharlaşmasının da kek ve bisküvi hamurlarının genleşmesine neden olduğu bildirilmiştir. Bundan yola çıkarak, prosesin farklı aşamalarında yeterli su buharı oluşturularak gıda sisteminde istenen kabarma seviyesi sağlanabilir. Bazı araştırmalarda, buğday ve buğday-baklagil keklerinde hava tutma süresini uzatmak için yumurta ilavesinin karıştırma işleminin sonuna ertelenebileceği belirtilmiştir (Diez-Sánchez vd., 2020; Monnet vd., 2021). Palier vd. (2022) de kabartma tozunun yerine yüksek basınçlı karıştırma sisteminin kullanılmasıyla havanın dahil edilebileceğini bildirmiştir. Formülasyonların gaz tutma potansiyelleri, un gibi bazı bileşenlerin modifiye edilmesiyle de artırılabilir (Polachini vd., 2022).

### 3. UN MODİFİKASYONU

Fırıncılık ürünleri üretmek için son üründen beklenen özelliklere göre farklı tahıl unları, baklagil unları ve/veya un karışımları kullanılabilir. Bunların içinde buğday unu iyi bilinen tekno-fonksiyonel özelliklerinden dolayı yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. Üretim için kullanılacak olan un çeşidi belirlendikten sonra basit ve temiz işleme adımları uygulanarak bazı işlevleri geliştirilebilir. Kuru ısı uygulaması ve fermentasyon bunların içinde son zamanlarda yaygın olarak kullanılan un modifikasyonu yöntemlerindedir.

#### 3.1 Kuru Isı Uygulaması

Isıl işlem görmüş un, fırıncılık ürünlerinde uygun bir hammadde olarak kabul edilmektedir. Kuru ısı uygulamasında un genellikle %4 neme kadar kurutulur sonrasında ısıl işleme tabi tutulur. Isıl işlem genellikle 120-140 °C'de 30 dakikaya kadar uygulanır ve ardından su püskürtülerek nem içeriği %7-12 arasına yükseltilir (Neill vd., 2012). Una ikame oranı uygulamaya göre değişmekle beraber, ekmek için yaklaşık %2-5 arasında ve kek için %100'e kadar kullanılabileceği bildirilmiştir (Bucella vd., 2017). Isıl işlem görmüş undan yapılan fırıncılık ürünleri, nişasta yüzeyinin artan hidrofobikliği sayesinde daha yüksek viskoziteli hamur üretme eğilimindedir. Ayrıca, pişirme işlemi sırasında daha erken ve daha hızlı bir yapılanmaya ek olarak hamura daha güçlü jel özellikleri kazandırır (Cook, 2002).

Son yıllarda klasik ısı uygulama yöntemlerine ek olarak mikrodalga uygulamaları gibi alternatif yöntemlerde un modifikasyonunda kullanılmaktadır. Glutensiz formülasyonlarda yaygın bir şekilde kullanılan pirinç unu mikrodalga işlemine maruz bırakıldığında son ürünün kalite özelliklerini iyileştirebileceği bildirilmiştir (Villanueva vd., 2018). Hassan vd. (2019) mısır tanelerine radyo frekansı kullanarak ısıtma işlemi uyguladıkları bir çalışmada elde ettikleri mısır ununun daha iyi emülsiyon ve yağ tutma özellikleri gösterdiğini bildirmişlerdir.

#### 3.2 Fermentasyon

Tahıllar ve baklagiller gibi bitki bazlı gıdaların fermente edilmesi, temiz etiket stratejisi doğrultusunda fırıncılık ürünleri üretmek için bir alternatif olabilmektedir. Son yıllarda, ekmek mayası (*Saccharomyces cerevisiae*) ve sodyum bikarbonat gibi kimyasal kabartıcıların yerini fermente edilmiş tahıl ve ekşi hamurun aldığı görülmektedir. Bu durum ayrıca, daha gelişmiş duyu özellikleri ve besleyici kalite ile sonuçlanmıştır. Bitkisel (mısır yada buğday nişastası) veya hayvansal (süt) kaynakların laktik asit veya propiyonik asit bakterileri ile fermente edilmesi sonucu elde edilen ürünlerin antifungal özellik gösterdiği ve bazı fırıncılık ürünlerinde sorbit ve propiyonat yerine kullanılabileceği bildirilmiştir (Samapundo vd., 2016).

Pirinç, mısır, amarant ve karabuğday içeren glutensiz ürün formülasyonlarında, ekzopolisakkarit üreten laktik asit bakterileri kıvam artırıcı olarak başarılı bir şekilde kullanılabilir. Ua-Arak vd. (2017),

*Gluconobacter albidus* ve *Kozakia baliensis* gibi levan üreten asetik asit bakterilerinin, karabuğday unundan üretilen glutensiz ekmeklerin hacim ve sertlik değerlerini olumlu yönde etkilediğini bildirmişlerdir.

#### 4. SONUÇ

Temiz etiketleme kapsamında, fırıncılık ürünlerinde kullanılabilecek alternatif ve doğal gıda katkılarının araştırılmasının yanı sıra bu katkıların minimum ve yeni teknolojiler kullanılarak üretilmesinin gerekliliği de söz konusudur. Günümüz tüketicileri hem doğal gıda katkı maddelerinin bulunmasını istemekte hem de ürün etiketinde üretim yöntemi açısından bilgilendirme de talep etmektedir. Temiz etiketleme kapsamında yapılan araştırmalar incelendiğinde, bu yaklaşımın, gıda araştırmalarında geleceğin gıdalarının tasarlanmasına yön veren bir unsur olduğu sonucuna varılmıştır.

#### 5. KAYNAKLAR

Asioli, D., Aschemann-Witzel, J., Caputo, V., Vecchio, R., Annunziata, A., Næs, T., & Varela, P. (2017). Making sense of the “clean label” trends: A review of consumer food choice behavior and discussion of industry implications. *Food Research International*, 99, 58-71.

Belorio, M., Sahagún, M., & Gómez, M. (2019). Psyllium as a fat replacer in layer cakes: Batter characteristics and cake quality. *Food and Bioprocess Technology*, 12, 2085-2092.

Bennion, E. B., & Bamford, G. S. T. (1997). *The technology of cake making*. Springer Science & Business Media.

Berton-Carabin, C., & Schroën, K. (2019). Towards new food emulsions: Designing the interface and beyond. *Current Opinion in Food Science*, 27, 74-81.

Bucsella, B., Takács, Á., von Reding, W., Schwendener, U., Kálmán, F., & Tömösközi, S. (2017). Rheological and stability aspects of dry and hydrothermally heat treated aleurone-rich wheat milling fraction. *Food chemistry*, 220, 9-17.

Busken, D. F. (2015). Cleaning it up—What is a “clean label” ingredient. *Cereal Foods World*, 60(2), 112-113.

Cook, S. (2002). Factors affecting the production of cakes from heat-treated cake flour. *Campden & Chorleywood Food Research Association Group*.

Carullo, G., Scarpelli, F., Belsito, E. L., Caputo, P., Oliviero Rossi, C., Mincione, A., ... & Aiello, F. (2020). Formulation of new baking (+)-catechin based leavening agents: Effects on rheology, sensory and antioxidant features during muffin preparation. *Foods*, 9(11), 1569.

Chen, J., Xiao, J., Tu, J., Yu, L., & Niu, L. (2023). The alleviative effect of sweet potato protein hydrolysates on the quality deterioration of frozen dough bread in comparison to trehalose. *LWT*, 114505.

Colla, K., Costanzo, A., & Gamlath, S. (2018). Fat replacers in baked food products. *Foods*, 7(12), 192.

Diez-Sánchez, E., Llorca, E., Quiles, A., & Hernando, I. (2018). Using different fibers to replace fat in sponge cakes: In vitro starch digestion and physico-structural studies. *Food Science and Technology International*, 24(6), 533-543.

Diez-Sánchez, E., Llorca, E., Tárrega, A., Fiszman, S., & Hernando, I. (2020). Changing chemical leavening to improve the structural, textural and sensory properties of functional cakes with blackcurrant pomace. *Lwt*, 127, 109378.

Do Nascimento, K. D. O., Paes, S. D. N. D., & Augusta, I. M. (2018). A review “Clean Labeling”: Applications of natural ingredients in bakery products. *J. Food Nutr. Res*, 6(5), 285-294.

Edwards, A. (2013). *Natural & clean label trends*. Ingredient Incorporated: Westchester, IL, USA.

Giri, N. A., & Sakhale, B. K. (2019). Development of sweet potato flour based high protein and low calorie gluten free cookies. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*, 7(2), 427-435.

- Hassan, A. B., von Hoersten, D., & Ahmed, I. A. M. (2019). Effect of radio frequency heat treatment on protein profile and functional properties of maize grain. *Food chemistry*, 271, 142-147.
- Ingredion. (2014). The clean label guide in Europe. Erişim tarihi: 16.02.2023 <https://www.ingredion.com/content/dam/ingredion/pdf-downloads/emea/87%20%20The%20Clean%20Label%20Guide%20to%20Europe%20from%20Ingredion.pdf>
- Lu, Z. H., Donner, E., & Liu, Q. (2021). Development and characterisation of gluten-free potato bread. *International Journal of Food Science & Technology*, 56(6), 3085-3098.
- Millar, K. A., Barry-Ryan, C., Burke, R., McCarthy, S., & Gallagher, E. (2019). Dough properties and baking characteristics of white bread, as affected by addition of raw, germinated and toasted pea flour. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 56, 102189.
- Monnet, A. F., Jeuffroy, M. H., Villemejeane, C., & Michon, C. (2021). Effect of the order of incorporation of cake ingredients on the formation of batter and the final properties: contribution of the addition of pea flour. *Journal of Food Science and Technology*, 58(11), 4252-4262.
- Neill, G., Ala'a, H., & Magee, T. R. A. (2012). Optimisation of time/temperature treatment, for heat treated soft wheat flour. *Journal of Food engineering*, 113(3), 422-426.
- Osborn, S. (2015). Labelling relating to natural ingredients and additives. In *Advances in food and beverage labelling* (pp. 207-221). Woodhead Publishing.
- Patel, A. R., Nicholson, R. A., & Marangoni, A. G. (2020). Applications of fat mimetics for the replacement of saturated and hydrogenated fat in food products. *Current Opinion in Food Science*, 33, 61-68.
- Polachini, T. C., Norwood, E. A., Le-Bail, P., & Le-Bail, A. (2022). Clean-label techno-functional ingredients for baking products—a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-16.
- Samapundo, S., Devlieghere, F., Vroman, A., & Eeckhout, M. (2016). Antifungal properties of fermentates and their potential to replace sorbate and propionate in pound cake. *International Journal of Food Microbiology*, 237, 157-163.
- Tulbek, M. C., Lam, R. S. H., Asavajaru, P., & Lam, A. (2017). Pea: A sustainable vegetable protein crop. In *Sustainable protein sources* (pp. 145-164). Academic Press.
- Ua-Arak, T., Jakob, F., & Vogel, R. F. (2017). Influence of levan-producing acetic acid bacteria on buckwheat-sourdough breads. *Food microbiology*, 65, 95-104.
- Villanueva, M., Harasym, J., Munoz, J. M., & Ronda, F. (2018). Microwave absorption capacity of rice flour. Impact of the radiation on rice flour microstructure, thermal and viscometric properties. *Journal of Food Engineering*, 224, 156-164.
- Wilderjans, E., Luyts, A., Brijs, K., & Delcour, J. A. (2013). Ingredient functionality in batter type cake making. *Trends in food science & technology*, 30(1), 6-15.

**AKKARAMAN KOYUNLARINA ÜREME SEZONUNDA VİTAMİN-MİNERAL  
KOMBİNASYONU UYGULAMASININ BAZI FERTİLİTE PARAMETRELERİNE ETKİSİ**  
**THE EFFECT OF VITAMIN-MINERAL COMBINATION TREATMENT ON SOME  
FERTILITY PARAMETERS IN AKKARAMAN EWES DURING THE BREEDING SEASON**

**Mükremin ÖLMEZ<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Dr. Öğr. Üyesi, Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları AD, Kars, Türkiye.

<sup>1</sup> ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5003-3383>

**Tarkan ŞAHİN<sup>2</sup>**

<sup>2</sup> Prof. Dr., Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları AD, Kars, Türkiye.

<sup>2</sup> ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0155-2707>

**Mehmet Akif YÖRÜK<sup>3</sup>**

<sup>3</sup> Prof. Dr., Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları AD, Erzurum, Türkiye.

<sup>3</sup> ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5833-9803>

**Buket BOĞA KURU<sup>4</sup>**

<sup>4</sup> Dr. Öğr. Üyesi, Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootekni AD, Kars, Türkiye.

<sup>4</sup> ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7170-270X>

**Özlem KARADAĞOĞLU<sup>5</sup>**

<sup>5</sup> Doç. Dr., Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları AD, Kars, Türkiye.

<sup>5</sup> ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5917-9565>

**Mushap KURU<sup>6</sup>**

<sup>6</sup> Doç. Dr., Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji AD, Kars, Türkiye.

<sup>6</sup> ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2652-8412>

**Hatice Gizem BÜYÜKBAKİ<sup>7</sup>**

<sup>7</sup> Doktora Öğrencisi, Kafkas Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları AD, Kars, Türkiye

<sup>7</sup> ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9627-6137>

## ÖZET

Bu çalışmada, Akkaraman koyunlarına üreme sezonunda vitamin-mineral kombinasyonu uygulamasının bazı fertilitate parametrelerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada 2-4 yaşlı toplamda 60 Akkaraman koyunu kullanıldı. Koyunlar yaş, vücut kondisyon skoru ve parite bakımından dengeli olacak şekilde 2 gruba ayrıldı. Grup 1'e (G1, Vitamin-Mineral Kombinasyonu, n=30) koç katımından 7 gün önce ve koç katımından 1, 7, 14, 21 gün sonra oral olarak vitamin-mineral kombinasyonu (Vetasupra Fertil Revagra®, Reva Tarım, Türkiye) uygulandı. Grup 2'ye (G2, Kontrol, n=30) G1 ile aynı zamanda sadece içme suyu verildi. Fertilitate parametrelerinden gebelik oranı, kuzulama oranı, doğum tipi, kuzu verimi, kuzularda cinsiyet oranı ve ilk hafta yaşama gücü belirlendi. Hem G1 hem de G2'de gebelik oranı ve kuzulama oranı istatistiksel olarak benzerdi (p>0,05). İkizlik

oranı G1 ve G2’de sırasıyla %36,7 ve 26,7 olarak belirlendi ( $p>0,05$ ). Kuzu verimi ve kuzularda cinsiyet dağılımı G1 ve G2’de istatistiksel olarak farklı değildi ( $p>0,05$ ). Kuzularda ilk hafta mortalite oranı G1 ve G2’de sırasıyla %4,9 ve %7,9’du ( $p>0,05$ ). Sonuç olarak, Akkaraman koyunlarına üreme sezonunda vitamin-mineral kombinasyonu tedavisi ikizlik oranı üzerine pozitif etkili olabilir. Ek olarak, kötü mera koşullarında vitamin-mineral eksikliği oluşabilecek koyunlarda bu tip tedaviler fertilitate parametrelerini arttırabilir.

**Anahtar kelimeler:** Akkaraman, fertilitate, ikizlik, üreme sezonu, vitamin-mineral

## ABSTRACT

In this study, it was aimed to determine the effect of vitamin-mineral combination treatment on some fertility parameters in Akkaraman ewes during the breeding season. A total of 60 Akkaraman ewes aged 2-4 were used in the study. Sheep were divided into 2 groups, balanced in terms of age, body condition score and parity. In Group 1 (G1, Vitamin-Mineral Combination,  $n=30$ ), sheep were administered vitamin-mineral combination (Vetasupra Fertil Revagra<sup>®</sup>, Reva Tarım, Türkiye) orally 7 days before ram exposure and 1, 7, 14, 21 days after ram exposure. Group 2 (G2, Control,  $n=30$ ) was given only drinking water at the same time as G1. Among the fertility parameters, pregnancy rate, lambing rate, birth type, litter size, sex ratio in lambs and first week survivor rate were determined. Pregnancy rate and lambing rate were statistically similar in both G1 and G2 ( $p>0.05$ ). The twinning rate was 36.7% and 26.7% in G1 and G2, respectively ( $p>0.05$ ). Litter size and gender distribution in lambs were not statistically different in G1 and G2 ( $p>0.05$ ). The first week mortality rate in lambs was 4.9% and 7.9% in G1 and G2, respectively ( $p>0.05$ ). As a result, vitamin-mineral combination treatment in Akkaraman ewes during the breeding season may have a positive effect on twinning rate. In addition, this type of treatment may increase fertility parameters in ewes that may develop vitamin-mineral deficiency in poor pasture conditions.

**Keywords:** Akkaraman, breeding season, fertility, twinning, vitamin-mineral.

## 1. GİRİŞ

Çiftlik hayvanlarında üreme performansı, genetik, fiziksel, çevre, besleme ve bakım şartlarına bağlıdır. Bu faktörler içerisinde üremeyi doğrudan veya dolaylı yollarla etkileyen en önemli faktörün beslenme olduğu literatürler ve saha uygulamalarıyla görülmektedir. Bu yüzden yeterli ve dengeli besleme normal verimli hayvanların en üst genetik potansiyeline ulaşmasını, yetersiz fiziksel şartların olumsuz etkilerini azaltmayı ve yönetim eksikliklerinin etkilerini hafifletmeyi sağlayabilmektedir (Smith and Akinbamijo, 2000).

Mevsime bağlı poliöstrik olan koyunlar, yaz aylarının sonu sonbahar aylarının başında seksüel aktivite göstermektedir. Bu sezona halk arasında “koç katımı” mevsimi denmektedir. Üreme sezonunda hormon üretiminin artmasına ve stres oluşmasına bağlı olarak hayvanların besin madde ihtiyaçları özellikle de vitamin-mineral ihtiyacı artmaktadır (Abdelrahman and Al-Karablieh, 2002; İbiş and Ağaoğlu, 2016). Koç katımı mevsiminde merada otlatılan koyunların vitamin-mineral ihtiyacının dönem itibarıyla mera kalitesinin ve besin madde içeriğinin azalmasından dolayı meradan karşılanamadığı bilinmektedir (Haliloğlu and Serpek, 2000). Doğal yemlemeyle alınan vitamin ve minerallerin yetersiz kaldığı ve rasyona vitamin-mineral karışımlarının ilave edilmediği durumlarda döl veriminden önemli düşüşler görülmektedir (Yeşil and Sarözkan, 2017). Bunun yanında yapılan araştırmalarda bu maddelerin anneden fetusa yetersiz transferi fetal gelişimin durmasına ve anomalilere neden olduğu da ortaya koyulmuştur (Smith and Akinbamijo, 2000; Hostetler et al., 2003). Bir çok çalışma koç katım döneminde flushing ya da vitamin-mineral uygulamalarının üreme performansını arttırdığını göstermiştir (Almeida et al., 2007; Griffiths et al., 2007). Yine bazı vitamin ve minerallerin antioksidan etki göstermesi ve bazılarının ise antioksidan enzimlerin yapısında bulunmasında dolayı üreme hücrelerini koruyarak performansı arttırdıkları da belirlenmiştir (Öziş Altınçekiç et al., 2019; Kıvrak et al., 2022).

Bu araştırmada üreme sezonundaki Akkaraman ırkı koyunlarda vitamin-mineral kombinasyonu ilavesinin gebelik oranı, kuzulama oranı, doğum tipi, kuzu verimi, kuzularda cinsiyet oranı ve ilk hafta yaşama gücü gibi bazı fertilitate parametreleri üzerine etkileri araştırılmıştır.

## 2. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan (KAU-HADYЕК/2019-119) alınan izinle gerçekleştirildi.

Araştırma Kars ilinin Selim ilçesine bağlı Akpınar köyünde bulunan özel bir koyun işletmesinde yürütüldü. Tüm deneme gruplarının barınma şartları hayvanların refah koşullarına göre ve aynı olacak şekilde ayarlandı. Çalışmada 2-4 yaşlı, ortalama  $55,4 \pm 1,4$  kg canlı ağırlıkta, vücut kondisyon skoru ve parite bakımından dengeli toplamda 60 Akkaraman koyunu kullanıldı. Çalışma işletmenin rutin beslenme şartları altında gerçekleştirildi.

Denemede koyunlar 2 eşit gruba (n=30) ayrıldı. Grup 1'deki hayvanlara koç katımından 7 gün önce ve koç katımını takip eden 1., 7., 14. ve 21. günlerde 25 g düzeyinde vitamin-mineral kombinasyonu (VMK) sulandırılarak (1/1) uygulandı. Kontrol grubu olan Grup 2'ye (G2) ise VMK uygulanan grupla ile eşit zamanlı olarak içme suyu verildi. Çalışmada kullanılan VMK özel bir firmadan (Vetasupra Fertil Revagra®, Reva Tarım, Türkiye) tedarik edildi.

Fertilitate parametrelerinden gebelik oranı, kuzulama oranı, doğum tipi, kuzu verimi, kuzularda cinsiyet oranı ve ilk hafta yaşama gücü belirlendi. İncelenen fertilitate parametreleri aşağıdaki formüllere göre hesaplanmıştır.

Gebelik oranı (%) = (Gebe koyun sayısı / Toplama koyun sayısı) x 100

Kuzulama oranı (%) = (Doğum yapana koyun sayısı / Toplama koyun sayısı) x 100

İkizlik oranı (%) = (İkiz doğum yapan kuzu sayısı / Doğum yapan koyun sayısı) x 100

Kuzu verimi = Doğan kuzu sayısı / Doğuran koyun sayısı

Cinsiyet Oranı (%) = (Erkek-Dişi kuzu sayısı / Doğan kuzu sayısı) x 100

Yaşama gücü oranı (%) = (İlk hafta sonunda yaşayan kuzu sayısı / Toplama kuzu sayısı) x 100

Çalışmadan uygulanan VMK'nın fertilitate parametreleri üzerine etkinliği Ki-Kare ( $\chi^2$ ) analizi ile test edildi. Sonuçların istatistiksel analizinde SPSS 20 (IBM Inc., Chicago-IL) kullanıldı.

## 3. BULGULAR

Çalışmada kullanılan Akkaraman koyunlarına ait bazı döl verim özellikleri Tablo 1'de sunulmuştur. Sonuçlar incelendiğinde iki grubun da gebelik ve kuzulama oranları %100 olarak belirlenmiştir. Gruplarda ikiz kuzulama oranları VMK uygulanan G1 grubunda %36,80, G2 (kontrol) grubunda ise %26,70 olarak hesaplanmıştır (p<0,05). VMK uygulanan grupta sayısal bir yükseklik görölmüş olsa da farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı olmamıştır. Kuzu verimi G1 grubunda 1,37, olurken, G2 grubunda 1,27 şeklinde belirlenmiş ve istatistiksel bir farklılık bulunmamıştır (p<0,05). Kuzulamalarda cinsiyet dağılımına bakıldığında gruplar arasında bir farklılık görölmemiştir (p<0,05). Bunun yanı sıra her iki grupta da dişi kuzu sayısı erkek kuzu sayısından fazla olmuştur. Kuzuların yaşama gücü G1 ve G2 gruplarında sırasıyla; %95,10 ve 92,10 olarak belirlenmiştir.

**Tablo 1.** Vitamin-Mineral Kombinasyonunun bazı fertilitate parametreleri üzerine etkisi (p>0.05)

Parametre	G1		G2	
	%	n / Total n	%	n / Total n
Gebelik oranı	100	30/30	100	30/30
Kuzulama oranı	100	30/30	100	30/30
İkiz doğum oranı	36,80	11/30	26,70	8/30
Kuzu verimi	1,37	41/30	1,27	38/30
Erkek	43,90	18/41	39,50	15/38
Dişi	56,10	23/41	60,50	23/38
İlk hafta yaşama gücü	95,10	39/41	92,10	35/38



G1= Vitamin-mineral kombinasyonu; G2= kontrol

Sonuç olarak, yapılan bu çalışmada Kars ili koşullarında, Akkaraman koyunlarında VMK ilavesinin fertilité parametreleri üzerine kontrol grubuna göre etkisi sınırlı olmuştur. En dikkat çekici etkisi ikizlik oranı üzerine pozitif etkili olmasıdır. Bu durum kullanılan kombinasyonun içeriği ve miktarıyla ilgili olabileceğini düşündürmektedir. Bu bağlamda ileride yapılacak çalışmalarda daha spesifik bir vitamin-mineral karması kullanılması ve farklı düzeylerde uygulanması fertilité parametreleri üzerine daha etkili bir sonuç elde edilmesine yardımcı olabileceği kanaati oluşmuştur.

#### 4. KAYNAKLAR

Abdelrahman, M.M., Al-Karablieh, E.K., 2002. Effect of Vitamins AD3E Injections on Reproductive Performance and Net Cash Revenue from Awassi Sheep Raised under Semi-intensive System. *Journal of King Saud University* 14, 15-22.

Almeida, A., Schwalbach, L., Cardoso, L., Greyling, J., 2007. Scrotal, testicular and semen characteristics of young Boer bucks fed winter veld hay: The effect of nutritional supplementation. *Small Ruminant Research* 73, 216-220.

Griffiths, L., Loeffler, S., Socha, M., Tomlinson, D., Johnson, A., 2007. Effects of supplementing complexed zinc, manganese, copper and cobalt on lactation and reproductive performance of intensively grazed lactating dairy cattle on the South Island of New Zealand. *Animal Feed Science and Technology* 137, 69-83.

Haliloğlu, S., Serpek, B., 2000. Koyunlarda Plazma Vitamin C ve Seruloplazmin Düzeyleriyle Eksojen Vitamin C Uygulamalarından Döl Verimi Üzerine Etkileri. *Türk J Vet Anim Sci* 24, 403-411.

Hostetler, C.E., Kincaid, R.L., Mirando, M.A., 2003. The role of essential trace elements in embryonic and fetal development in livestock. *The Veterinary Journal* 166, 125-139.

İbiş, M., Ağaoğlu, A.R., 2016. Koyun ve keçilerde üremenin senkronizasyonu. *Veterinary Journal of Mehmet Akif Ersoy University* 1, 47-53.

Kıvrak, M.B., Takcı, A., Bölükbaş, B., Yüksel, M., 2022. Aşım sezonunda senkronize edilen Kangal ırkı koyunlarda vitamin ve mineral desteğinin gebelik oranları üzerine etkisi. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences* 38, 115-121.

Öziş Altınçekiç, Ş., Koyuncu, M., Nageye, F.İ., 2019. Anöstrus Dönemindeki Koyunlarda CIDR, Vitamin A, E+ Selenium Kullanımının Döl Verimine Etkileri. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi* 22, 179-187.

Smith, O., Akinbamijo, O., 2000. Micronutrients and reproduction in farm animals. *Animal reproduction science* 60, 549-560.

Yeşil, M., Sariözkan, S., 2017. Dişi üreme sistemi açısından önemli bazı vitamin ve mineraller. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 14, 201-208.

**BAZI DÜŞÜK KALİTELİ KABA YEM KAYNAKLARININ İN VİTRO  
SİNDİRİLEBİLİRLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**  
**DETERMINATION OF THE *IN VITRO* DIGESTIBILITY OF SOME LOW QUALITY  
ROUGHAGE SOURCES**

**Samet KUZGUN<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları  
Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye.*

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6668-2743>

**Mustafa SALMAN<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>*Doç. Dr., Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme  
Hastalıkları Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye.*

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0828-5998>

**ÖZET**

Bu araştırmanın amacı, koyun ve keçi beslemede yaygın olarak kullanılan buğdaygil ve baklagil samanlarının *in vitro* gerçek sindirilebilirlik (IVTD<sub>YEM</sub>) değerleri ve hayvan türüne göre etkin kullanımını tespit etmektir. Yem materyalini arpa, buğday, yulaf, tritikale, bakla, nohut ve mercimek samanları oluşturdu. Araştırma özel bir işletmede sağlıklı ve bir yaşın üzerindeki birer adet koyun ve keçi satın alınarak, aynı işletmedeki hayvanlar içinde 3 hafta beslenmeleri takip edildi. Hayvanlar özel bir işletmede kesilerek rumen sıvıları uygun koşullarda laboratuvara ulaştırıldı. Yemlerin *in vitro* gerçek sindirilebilirlik değerlerini belirlemek için Daisy inkübatör kullanıldı.

Keçi rumen sıvısı kullanılan grupta (grup 2) buğdaygil samanlarının (tritikale, buğday, arpa ve yulaf samanı) tamamında IVTD<sub>YEM</sub> değerleri koyun rumen sıvısı kullanılan gruba (grup 1) göre istatistiksel olarak önemli bulundu (P<0.05). Yulaf samanının IVTD<sub>YEM</sub> değerleri diğer buğdaygil samanlarına göre daha yüksekti (P<0.05). Koyun ve keçi rumen sıvısı kullanımı nohut, bakla ve mercimek samanının IVTD<sub>YEM</sub> değerleri bakımından istatistiksel bir farklılık oluşturmamıştır. Baklagil samanları içerisinde en yüksek sindirilebilirlik bakla samanında tespit edildi (P<0.05).

Sonuç olarak, keçi rumen sıvısı kullanımı, düşük kalitedeki buğdaygil samanlarının IVTD<sub>YEM</sub> üzerinde koyun rumen sıvısı kullanımına göre daha etkili olmuştur. Bunun yanında, keçi rumen sıvısı kullanımında yulaf samanı diğer buğdaygil samanlarına göre daha iyi sindirilmiştir. Keçi rumen sıvısı kullanımı düşük kalitedeki tritikale, buğday, arpa ve yulaf samanının IVTD<sub>YEM</sub> üzerinde daha etkili olması, hayvanlara aynı rasyon sunulmasına rağmen yem tercihleri ve buna bağlı oluşan rumendeki mikrobiyanın besin madde kullanımı ve metabolizmasından kaynaklanabilir. Bakla samanı diğer baklagil samanlarına göre daha yüksek sindirilebilirlik (IVTD<sub>YEM</sub>) tespit edilirken, ancak farklı rumen sıvısı kullanımı karşılaştırıldığında aynı etkiyi göstermedi.

**Anahtar kelimeler:** Baklagil, buğdaygil, *in vitro* sindirilebilirlik, rumen, saman

**ABSTRACT**

The aim of this research is to determine the *in vitro* true digestibility (IVTD<sub>asfeed</sub>) values of wheat and legume straw, which is widely used in sheep and goat feeding, and the effective use of animal species. The feed material consisted of barley, wheat, oat, triticale, broad bean, chickpea and lentil straws. In the research, healthy and one-year-old sheep and goats were purchased in a private farm, and their feeding was followed for 3 weeks with the animals in the same farm. The animals were slaughtered in a private enterprise, and their rumen fluids were delivered to the laboratory under appropriate conditions. Daisy incubator was used to determine the *in vitro* true digestibility values of the feeds.

IVTD<sub>asfeed</sub> values of cereal straw (triticale, wheat, barley and oat straw) were statistically significant ( $P<0.05$ ) compared to goat rumen fluid (group 2) and sheep rumen fluid (group 1) ( $P<0.05$ ). IVTD<sub>asfeed</sub> values of oat straw were higher than other cereal straws ( $P<0.05$ ). The use of sheep and goat rumen fluid did not make a statistical difference in terms of IVTD<sub>asfeed</sub> values of chickpea, broad bean and lentil straw. Among the legume straws, the highest digestibility was determined in the broad bean straw ( $P<0.05$ ). As a result, the use of goat rumen fluid was more effective than the use of sheep rumen fluid on IVTD<sub>asfeed</sub> of low quality cereal straws. In addition, oat straw was better digested than other cereal straws in the use of goat rumen fluid. The main reasons why the use of goat rumen fluid is more effective on the IVTD<sub>asfeed</sub> value of low quality triticale, wheat, barley and oat straw may be due to the nutrient use and metabolism of the microbiota in the rumen, which is formed due to the feed preferences of the animals, although the animals are offered the same ration. While higher IVTD<sub>asfeed</sub> was detected in bean straw compared to other legume straws, it did not show the same effect when using different rumen fluids.

**Key words:** Legumes, cereal, *in vitro* digestibility, rumen, straw

## GİRİŞ

Samanlar, vejetasyon dönemini tamamlayan buğdaygil ve baklagil tohumlarının hasatından sonra geriye kalan sap ve yapraklardan oluşan ürünler olarak tanımlanır. Buğdaygil ve baklagil samanları besin madde içerikleri yönünden düşük kaliteli kaba yemler sınıfına dahil edilir. Bu yem kaynaklarındaki yüksek selüloz ve lignin içeriği ruminant beslemede kullanımını kısıtlamaktadır. Besin maddelerinden düşük düzeyde yararlanma söz konusu olmasına rağmen içerdikleri balast madde nedeniyle ruminantlarda fiziksel bir doyum sağlamaktadır. Ülkemizde özellikle kış döneminde iyi kaliteli kaba yem kaynaklarının yetersizliğinden dolayı samanlar kaba yem kaynağı olarak çok yaygın bir şekilde koyun ve keçi beslemede kullanılmaktadır.

Ruminantlarda rumen fermentasyonu yemin etkin kullanımı, verim ve sağlık üzerinde önemli bir rol oynar. Rumende kolonize olan mikroplar aracılığıyla düşük kaliteli bitki proteinini ve protein niteliğinde olmayan azotlu bileşikleri yüksek kaliteli mikrobiyal proteine dönüştürebilir ve bitki liflerini uçucu yağ asitlerine (UYA) hidrolize ederek yemin sindirilebilirliğini artırır (Sakita ve ark., 2022). Bazı çalışmalar, rumendeki mikrobiyal protein sentezinin gerekli proteinin çoğunluğunu sağladığı (toplam absorbe edilen proteinin %50 ila 80'ini oluşturur) (Bach ve ark., 2005) ve rumende üretilen UYA'ların ruminantlar için toplam metabolik enerjinin yaklaşık %75'ini sağladığı sonucuna varmıştır (Bergman, 1990). Bu nedenle, rumen fermentasyonunu hedeflemek, geviş getiren hayvanlar için yem sindirimini geliştirmenin etkili bir yoludur. Rumen fermentasyonunu etkileyen başlıca faktörlerin anlaşılması rumendeki yem sindirimini artırılmasında en önemli adımdır. Önceki çalışmalar, yemin bileşimi (Na ve ark., 2017), yemin tipi, yemin işlenmesi ve katkı maddelerinin rumen fermentasyonunu (Wegi ve ark., 2020; Andriarimalalave ark., 2020) etkileyebileceği gözlemlenmiştir. Ancak, bu yem faktörleri, benzer ruminant türleri arasında bile yemin sindirilebilirliğindeki farklılıkları açıklayamamıştır. Bazı çalışmalar rumen bakterisi, mantar ve protozoaların işbirlikçi ve rekabetçi ilişkilerinin yanı sıra kompozisyonunun rumen fermentasyonunu (Lin ve ark., 2019; Newbold ve Ramos-Morales, 2020; Denman ve McSweeney, 2015) etkilediğini de göstermiştir. Bu anlamda koyun ve keçi rumen sıvı ya da içerikleri birbirine transfer edilerek besin madde sindirilebilirlikleri değiştirilebilir. Ham selülozun parçalanması protozoanın uzaklaştırılmasından (Zhang ve ark., 2020) ve yeme *Bacillus licheniformis* takviyesinden sonra nötr deterjan lifi (NDF), asit deterjan lifi (ADF) ve organik maddenin (OM) sindirilebilirliği artmıştır (Deng ve ark., 2018).

Bazı araştırmalar, farklı ruminant türlerinin rumen mikrobiyal topluluğunun da farklılık gösterdiğini belirtmiştir (Bach ve ark., 2019; Yue ve ark., 2020). Böylece, farklı ruminant türlerinin mikrobiyota bileşimindeki farklılığın yem sindirilebilirlik varyasyonlarına katkıda bulunabildiği ve bazı bakteriyel taksonlar kilit roller oynayabildiği düşünülebilir. Ruminantlarda, rumendeki mikroflora ve mikrofauna besin maddelerinin metabolize edilmesinde türler arasında farklılık göstermektedir. Bu nedenle buğdaygil ve baklagil samanlarının sindiriminde de farklılık oluşturabilir. Bu proje ile, koyun ve keçi beslemede yaygın olarak kullanılan buğdaygil ve baklagil samanlarının *in vitro* gerçek sindirilebilirlik (IVTD<sub>YEM</sub>) değerleri ve hayvan türüne göre etkin kullanımını tespit etmektir.

## MATERYAL VE METOT

### Yem ve Hayvan Materyali

Araştırmanın yem materyalini arpa, buğday, yulaf, tritikale, bakla, nohut ve mercimek samanları oluşturdu. Hayvan materyali olarak özel bir işletmede sağlıklı ve bir yaşın üzerindeki birer adet koyun ve keçi satın alınarak, aynı işletmedeki hayvanlar içinde 3 hafta beslenmeleri takip edildi. Hayvanların beslenmesinde arpa otomatik yemliklerde *ad libitum*, saman yeterli miktarda sürekli önlerinde bulunacak şekilde tüketimine sunulmuştur. Yonca kuru otu ise hayvan başına yaklaşık 250 g olacak şekilde günlük olarak öğle saatinde önlerine konulmuştur.

### Yemlerin Besin Madde Kompozisyonlarının Belirlenmesi

Araştırmada kullanılan buğdaygil ve baklagil samanlarının kimyasal analizleri Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirildi. Kuru madde (KM) analizi kurutma dolabında (Memmert UNE 400, Germany), ham kül analizi kül fırınında (Carbolite ELF 11/14, UK), ham yağ analizi soxhlet ekstraksiyon cihazında (Büchi extraction system B-811, İsviçre) ve ham protein analizi Kjeldahl metodu (Büchi Digestion Unit K-424, Distillation Unit B-324, Switzerland) kullanılarak AOAC (2006)'ya göre saptandı. Yem örneklerinin NDF değerleri Ankom 200/220 Fiber Analyzer cihazı (Ankom Technology Corporation, Fairport, NY, USA) kullanılarak Van Soest ve ark. (1991)'nin bildirdiği yöntemle göre belirlendi.

### Rumen Sıvısı

Diğer sistemlerde olduğu gibi Daisy inkübatör içinde en sık kullanılan inokulum kaynağı rumen sıvısıdır. Rumen sıvısının alınması için hayvanlar 3 haftalık beslenme periyodundan sonra özel bir işletmeye götürülerek kesimleri gerçekleştirildi. Yemlemeden yaklaşık 2 saat sonra kesilen koyun ve keçiden rumen sıvıları alındı. Rumen sıvısı alınımında mikrobiyal faaliyetin zarar görmemesi için daha önce uygun sıcaklığa getirilmiş ve karbondioksit verilen termoslar kullanıldı. Daha sonra rumen sıvısı yaklaşık 15 dk içerisinde laboratuvara ulaştırıldı.

### *In Vitro* Gerçek Sindirilebilirliğin Belirlenmesi

Ankom Teknoloji Metot 3 ile Daisy inkübatör kullanılarak yemlerin *in vitro* gerçek sindirilebilirlikleri belirlendi. Bu amaçla buffer solüsyon A ve B kullanıldı. Buffer A solüsyonunun litresinde  $KH_2PO_4$  10 g,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0,5 g, NaCl 0,5 g,  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  0,1 g, üre 0,5 g; Buffer Solüsyonu B'nin litresinde ise  $Na_2CO_3$  15 g,  $Na_2S_9H_2O$  1 g olacak şekilde hazırlandı. Asetonda 3 dakika bekletilen F57 torbaları, daha sonra oda sıcaklığında asetonun uçması beklendi. Öğütülmüş ve homojenize edilmiş 0,5 g yem örneği her bir yem maddesi için 4 tekerrür olacak şekilde torbalara konuldu. Torbaların ağzı ısıyla (heat sealer) kapatıldı. Dört katlı sargı bezi kullanılarak 39 °C'de  $CO_2$ 'li ortamda süzülde. Hazırlanan buffer A solüsyonu 1330 ml ve B solüsyonu 266 ml karıştırılarak sıcaklığı 39 °C'ye getirilerek sindirim ünitesine yerleştirildi. Daha sonra her sindirim ünitesine 400'er ml rumen sıvısı ve  $CO_2$  gazı ilave edildi. Örnekler 48 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası mikrobiyal fermentasyonu durdurmak amacıyla inokulum (buffer solüsyonu ve rumen sıvısı) dökülerek torbalar akan çeşme suyu altında tamamen temizleninceye kadar yıkandı. Daha sonra ANKOM Fiber Analyzer cihazında NDF prosedürü uygulandı

## BULGULAR

Koyun ve keçi rumen sıvısı kullanılarak buğdaygil ve baklagil samanlarının *in vitro* gerçek sindirilebilirlikleri Tablo 1'de sunulmuştur.

Tablo 1. Ortalama *in vitro* gerçek sindirilebilirlik değerlerinin (IVTD<sub>YEM</sub>) yem ve gruplara göre karşılaştırılması

Yem maddesi	1	2
Tritikale samanı	47,44±0,63 <sup>e</sup>	50,74±0,67 <sup>d</sup>
Buğday samanı	50,93±1,28 <sup>d</sup>	57,67±0,50 <sup>c</sup>
Arpa samanı	48,01±0,71 <sup>e</sup>	52,12±1,26 <sup>d</sup>
Yulaf samanı	57,11±0,72 <sup>c</sup>	60,77±0,60 <sup>b</sup>
Nohut samanı	58,78±1,60 <sup>bc</sup>	60,65±0,31 <sup>b</sup>
Bakla samanı	78,67±0,61 <sup>a</sup>	78,15±0,48 <sup>a</sup>
Mercimek samanı	60,34±1,01 <sup>b</sup>	60,52±0,80 <sup>b</sup>

<sup>a-e</sup>: Aynı harfe sahip yem\*grup etkileşimleri arasında fark yoktur.

## TARTIŞMA

Ruminantlarda besin maddelerinin sindirilebilirliği rumendeki mikroorganizmalar ve bunlar tarafından üretilen enzimlere bağlıdır. Bu çalışmada keçi rumen sıvısı kullanımı (grup 2) buğdaygil samanlarının (tritikale, buğday, arpa ve yulaf samanı) *in vitro* gerçek sindirilebilirlikleri koyun rumen sıvısı kullanımına (grup 1) göre istatistiksel olarak önemli ( $P<0.05$ ) bulunmuştur (Tablo 1). Bunun başlıca nedenlerinden biri koyun ve keçinin rumen bakterisi topluluklarındaki önemli farklılıklar olabilir. Rumen mikrobiyal topluluğu bakteri, mantar ve protozoadan oluşur ve bunların ayrıca rumen fermantasyonunu da etkileyebilecek beslenme, rekabet ve hatta simbiyotik ilişkileri söz konusudur. Rumendeki protozoa karbonhidrat ve protein sindirilebilirliğini etkileyebilir ve aynı zamanda fagositik aktivitesi ile rumen bakterilerinin nispi çokluğunu koruma altına alarak hayatta kalma yeteneğine sürdürür (Ayemele ve ark., 2021, Li ve ark., 2022). Bu nedenle, rumen bakterileri ruminantların ana rumen mikrobiyal topluluğu olmasına rağmen, rumen mantarları ve protozoaları yemin parçalanma sürecinde önemli bir rol oluşturur.

Mevcut çalışmada yulaf samanının *in vitro* gerçek sindirilebilirliği diğer buğdaygil samanlarına göre daha yüksek tespit edildi ( $P<0.05$ ). Cuddeford (1995), yulaf samanının organik madde sindirilebilirliğinin diğer tahıllara göre daha yüksek olduğunu belirtmesi şimdiki çalışmanın sonuçlarını desteklemektedir. Kafilzadeh ve ark (2012), araştırmalarında 18 adet yulaf varietesinin *in vitro* sindirilebilirliklerini belirlemek amacıyla Tilley & Terry (1963) metodunu kullanmıştır. Yulaf samanının *in vitro* kuru madde sindirilebilirliklerini 39,7-52,9 aralığında tespit etmiştir. Bu sonuçlar şimdiki çalışmanın sonuçlarına göre düşük bulunması kullanılan yöntem farklılığı yanında samanın sadece kimyasal kompozisyonu değil aynı zamanda bitkinin gövdesi, yaprağı ve tohum oranları da etkileyebilir. Şimdiki çalışmada koyun rumen sıvısı kullanılan grupta yulaf samanının *in vitro* gerçek sindirilebilirliği %57.11 olarak bulunmuştur. López ve ark. (2005), yulaf samanının *in vitro* kuru madde sindirilebilirliğini %54.2 olarak belirlemiştir. Bu sonuçlar şimdiki çalışmaya göre düşüktür. Şehu ve ark. (1996), ergin merinos koçlarında naylon kese tekniği ile buğday, arpa ve yulaf samanının *in vivo* sindirilme derecelerini hesaplamıştır. Buğday, arpa ve yulaf samanının *in vivo* kuru madde sindirilme derecesi sırasıyla % 43.5, 47.4 ve 56.0 olarak tespit edilmiştir. *In vitro* olarak gerçekleştirilen mevcut çalışmanın sonuçlarından daha düşük tespit edilmiştir.

Genel olarak baklagil samanları, tahıl samanlarından daha yüksek ham protein ve metabolik enerji konsantrasyonları ve daha düşük NDF içeriğine sahiptir. Sindirilebilir hücre içeriği oranlarının daha yüksek olması nedeniyle baklagil samanlarının ortalama kuru madde sindirilebilirliği ve rumende parçalanabilirliği tahıl samanlarından sırasıyla %10 ve %42 daha yüksek belirlenmiştir (López ve ark., 2005). Ülkemizde yaygın olarak kullanılan buğdaygil samanı olarak buğday samanı ile baklagil samanı olarak mercimek samanının koyun rumen sıvısı kullanılan grupta sindirilebilirlikleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Mercimek samanının sindirilebilirliği buğday

samanından yaklaşık %19,6 daha yüksek tespit edilmiştir. Aynı şekilde buğday samanının *in vitro* sindirilebilirliği nohut samanından %16.5 daha düşük tespit edilmiştir. Bu durum daha çok yemlerin kuru madde sindirimi üzerinde bitki dokularında bulunan hücre tiplerinin nispi oranı ve bitki hücre duvarına mikrobiyal erişimi kısıtlayan faktörlerin varlığı gibi yapısal faktörler büyük ölçüde etkilidir. Bununla birlikte, *in vitro* 144 saatlik inkübasyondan sonra hücre duvarı sindirilebilirliği ve potansiyel parçalanabilirlik, muhtemelen daha düşük hücre duvarı lignifikasyonu ve en çok sindirilebilir hücre duvarı bileşeni olan daha yüksek hemiselüloz içeriği nedeniyle buğdaygil samanları baklagil samanlarından daha yüksek belirlendi (López ve ark., 2005). Hücre duvarı kompozisyonu da buğdaygil ve baklagil samanları arasında rumendeki parçalanma kinetiklerinde önemli farklılıkların nedenini açıklamaktadır. Bu nedenle, rumende kalış süresinin daha az lignifiye olmuş hücre duvarlarının kapsamlı bir şekilde parçalanmasını sağlayacak kadar uzun olması koşuluyla, tahıl samanları potansiyel olarak baklagil samanlarından daha fazla sindirilebilir. Bununla birlikte, tahıl samanlarının parçalanma hızı çok yavaş olduğu için, örneğin yaşama payı düzeyinde beslenen hayvanlarda olduğu gibi, yavaş geçiş hızlarında bile bu samanların rumende baklagil samanlarından daha az parçalanması beklenir. Buğdaygil samanlarına kıyasla baklagillerin daha yüksek ham protein içeriği ve parçalanma hızı, baklagil kaba yemlerinin daha fazla istekli olarak tüketilmesine de neden olabilir. Koyun ve keçi rumen sıvısı kullanımında bakla samanının *in vitro* gerçek sindirilebilirlikleri sırasıyla %77.05 ve %76.46 olarak tespit edilmiştir. Yapılan bir başka çalışmada (López ve ark., 2005) nohut samanının *in vitro* gerçek sindirilebilirlikleri şimdiki çalışmadaki hem koyun hem de keçi rumen sıvısı kullanımına göre düşük bulunmuştur.

## SONUÇ

Sonuç olarak, bakla samanı diğer baklagil samanlarına göre daha yüksek *in vitro* gerçek sindirilebilirlik tespit edilirken, ancak farklı rumen sıvısı kullanımı yönünden karşılaştırıldığında aynı etkiyi göstermemiştir. Keçi rumen sıvısı kullanımı, düşük kalitedeki buğdaygil samanlarının IVTD<sub>YEM</sub> sindirilebilirliği üzerinde koyun rumen sıvısı kullanımına göre daha etkili olmuştur. Bunun yanında, keçi rumen sıvısı kullanımında yulaf samanı diğer buğdaygil samanlarına göre daha iyi sindirilmiştir. Keçi rumen sıvısı kullanımı düşük kaliteki tritikale, buğday, arpa ve yulaf samanının IVTD<sub>YEM</sub> sindirilebilirliği üzerinde daha etkili olması, hayvanlara aynı rasyon sunulmasına rağmen yem tercihleri ve buna bağlı oluşan rumendeki mikrobiyanın besin madde kullanımı ve metabolizmasından kaynaklanabilir.

## KAYNAKLAR

1. Andriarimalala JH, Dubeux J., Dilorenzo N., Jaramillo DM., Salgado P. Use of n-alkanes to estimate feed intake in ruminants: A meta-analysis. J Anim Sci 2020, 98: 46–57.
2. AOAC. Official Methods of Analysis, 18th edn. Association of Official Analytical Chemists, Inc., Arlington, VA, 2006.
3. Ayemele AG, Ma L., Li X., Yang P., Xu J., Yu Z., Bu D. Identification of bioactive phytochemicals from six plants: mechanistic insights into the inhibition of rumen protozoa, ammoniogenesis, and  $\alpha$ -glucosidase. Biology 2021, 10: 1055.
4. Bach A, Calsamiglia S., Stern MD. Nitrogen metabolism in the rumen. J. Dairy Sci 2005, 88: 9–21.
5. Bach A, López-García A., González-Recio O., Elcoso G., Fàbregas F., Chaucheyras-Durand F., Castex M. Changes in the rumen and colon microbiota and effects of live yeast feedary supplementation during the transition from the dry period to lactation of dairy cows. J Dairy Sci 2019, 102: 45–57.
6. Bergman EN. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. Physiol Rev 1990, 70: 567–590.
7. Cuddeford D. Oats for animal feed. In: The Oat Crop. Ed. Welch, R.W., Chapman and Hall, UK. pp. 1995, 321–368.
8. Denman SE, McSweeney CS. The early impact of genomics and metagenomics on ruminal microbiology. Annu Rev Anim Biosci 2015, 3: 447–465.

9. Deng KD., Xiao Y., Ma T., Tu Y., Diao QY., Chen YH., Jiang JJ. Ruminal fermentation, nutrient metabolism, and methane emissions of sheep in response to feedary supplementation with *Bacillus licheniformis*. *Anim Feed Sci Technol* 2018, 04: 38–44.
10. Kafilzadeh F, Heidary N., Bahraminejad S. Variety effect on composition, kinetics of fermentation and *In vitro* digestibility of oat (*Avena sativa* L.) straw and its neutral detergent fibre. *S Afr J Anim Sci* 2012, 42(4): 406-415.
11. Li J., Yan H., Chen J., Duan C., Guo Y., Liu Y., Zhang Y., Ji S. Correlation of Ruminal Fermentation Parameters and Rumen Bacterial Community by Comparing Those of the Goat, Sheep, and Cow In Vitro. *Fermentation* 2022, 8: 427.
12. Lin L., Xie F., Sun D., Liu J., Zhu W., Mao S. Ruminal microbiome-host crosstalk stimulates the development of the ruminal epithelium in a lamb model. *Microbiome* 2019, 7: 45–56.
13. López S., Davies DR., Giraldez FJ, Dhanoa MS., Jan Dijkstra J., France J. Assessment of nutritive value of cereal and legume straws based on chemical composition and in vitro digestibility. *J Sci Food Agric* 2005, 85:1550–1557.
14. Na Y., Li DH., Lee SR. Effects of feedary forage-to-concentrate ratio on nutrient digestibility and enteric methane production in growing goats (*Capra hircus hircus*) and Sika deer (*Cervus nippon hortulorum*). *J. Anim. Sci* 2017, 30: 967–972.
15. Newbold CJ, Ramos-Morales E. Review: Ruminal microbiome and microbial metabolome: Effects of feed and ruminant host. *Animal* 2020, 14: 78–86.
16. Sakita GZ., Lima P., Filho A., Bompadre T., Ovani V., Chaves C., Bizzuti B., Costa W., Paim P., Campioni T. Treating tropical grass with fibrolytic enzymes from the fungus *Trichoderma reesei*: Effects on animal performance, digestibility and enteric methane emissions of growing lambs. *Anim Feed Sci Technol* 2022, 286: 115–253.
17. Şehu A., Yalçın S., Önoğ AG. The in vivo digestibility coefficients and rumen degradability characteristics of some cereal straws. *Ankara Oniv. Vet. Fak. Derg.* 43: 469-477,1996.
18. Tilley JMA., Terry RA. A Two-Stage Technique for in Vitro Digestion of Forages Crops. *J Br Grassl Soc* 1963, 18, 104-111.
19. Van Soest PJ., Robertson JB., Lewis BA. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci* 1991, 74:3583-3597.
20. Wegi T, Hassen A., Bezabih M., Nurfeta A., Tolera A. Estimation of feed intake and digestibility in Zebu type Arsi steers fed natural pasture using the n-alkane technique. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 2020, 271: 56–67.
21. Yue ZQ., Xu YZ., Wang C., Liu Q., Zhang SL. Effects of feedary laccase supplementation on growth performance, nutrient digestion, rumen fermentation and microbiota in dairy bulls. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 2020, 11: 46–51.
22. Zhang Z, Wang S, Wang M., Shahzad K., Zhang X., Qi R., Shi L. Effects of urtica cannabina to leymus chinensis ratios on ruminal microorganisms and fiber degradation in vitro. *Animals* 2020, 20: 335.

**UNDERSTANDING FOOD LITERACY: A REVIEW**  
**GIDA OKURYAZARLIĞINI ANLAMAK: DERLEME**

**Banu AKGÜN<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Dr., Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Bursa, Türkiye.*

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7451-7174>

**Nurcan Aysar GÜZELSOY<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>*Dr., Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Bursa, Türkiye.*

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6843-6076>

**İlkem Demirkesen MERT<sup>3</sup>**

<sup>3</sup>*Dr., Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Ankara, Türkiye.*

<sup>3</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1872-5838>

**Vér ANDRÁS<sup>4</sup>**

<sup>4</sup>*Dr., Széchenyi István University, Győr, Macaristan.*

<sup>4</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3604-3080>

**Gabriella JANKÓ-KNAPP<sup>5</sup>**

<sup>5</sup>*Dr., Széchenyi István University, Győr, Macaristan.*

<sup>5</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0526-7655>

**Angel Martinez SANMARTIN<sup>6</sup>**

<sup>6</sup>*National Technological Centre for the Food and Canning Industry, Murcia, İspanya.*

<sup>6</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3952-4536>

**Ahmet BUDAKLIER<sup>7</sup>**

<sup>7</sup>*Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Ankara, Türkiye.*

<sup>7</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5899-9345>

**ABSTRACT**

People around the world are becoming inactive regarding food-related activities like food preparation and meal planning, and they tend to prefer processed foods more. This dietary trend has the potential to negatively affect one's well-being and health because many processed foods are high in sugar, salt or saturated fat. The food literacy term came in sight in modern nutrition policies and it presents an opportunity to arm the public with the knowledge, skills, attitudes and self-efficacy required to make healthy dietary decisions. However, the recognition of food literacy concept among people is still limited. The goal of this review is to define food literacy and its components, give information about current related studies and food literacy policies, and investigate the correlation between people's food literacy knowledge and healthy eating behaviour. This review will contribute to understand the importance of healthy nutrition and how to make the right food choices. The fulfillment of personal health goals will be aided in this way.

**Keywords:** food literacy, definition, healthy eating, food literacy policies.



## 1. INTRODUCTION

A balanced diet can be defined as consuming adequate proportions of carbohydrates, proteins and fats, as well as other health-promoting nutrients to preserve a good state of health. Due to an unbalanced diet, people in industrialized countries commonly suffer from diet-related illnesses like cancer, obesity, diabetes and coronary heart disease (Leitzmann, 2009). The percentage of obese people is rising every year in most European Union (EU) countries (Krzysztozek et al., 2019). According to the Organization for Economic Co-Operation and Development (OECD) Health Statistics 2017, the percentage of obesity in the population aged 15 years and over was high in the United States (38.2%), Hungary (30%), United Kingdom (26.9%), Germany (23.6%), Türkiye (22.3%), Estonia (18%) and Spain (16.7%) (OECD, 2017). On the other hand, hunger has been increasing in less economically developed countries (WHO, 2019). Also, COVID-19, which is predicted to continue, will affect hunger (Murray, 2022). Thus, people should manage their nutrition intake to have a balanced diet and being food literate is inevitable to achieve this aim (Bahar and Yılmaz, 2021a).

Globally, the “food literacy” term has become crucial but a lack of lucidity on its definition has led to differences in its usage. Food literacy term showed up in modern nutrition policies in the 1990’s and in literature from 2001 (Thompson et al., 2021). Dietary habits and food literacy competencies of different countries have been evaluated by various researchers (Durmuş et al., 2018; Slater et al., 2018; Liu et al., 2020; Marino et al., 2021; Quintero-Angel et al., 2022). These studies underline the poor quality of diet, the excessive consumption of processed foods, loss of food heritage and lack of fundamental competencies to tackle complex food environments (EFAD, 2018).

Food selection is impacted by many different factors. Personal selection, economic factors, health concerns, ethical issues and influence of social environment are some of these factors. Surveys revealed that unhealthy processed foods consumption among children and adults was high (Cavassim et al., 2016; Shim et al., 2022). By means of social media, food-related information can be spread fast. However, the control over the shared information quality is insufficient, which may distort knowledge (Steils and Obaidalahe, 2020). People aged between the ages 19 and 37 are the second youngest consumer group and their food choices and purchase decisions are hugely affected by social medias (e.g. Google, Facebook, Pinterest, and YouTube) (Shipman, 2020). Kucharczuk et al. (2022) stated that the food advertisements and social media may negatively influence the eating habits of adolescents. Nonetheless, Qutteina et al. (2022) stated that social media can also be an opportunity for health professionals in the encouraging of core foods among young people. Also, it was seen that being the Facebook group members “Homemade Food for Babies” developed food and nutrition literacy of parents via group content (recipes, guidelines, advice) (Cupar and Juric, 2019).

The terms of education and literacy are significant in health development. There are similarities and differences in health literacy, nutrition literacy and food literacy (Truman et al., 2020). Food literacy is intimately related to health literacy. Higher food literacy knowledge may ensure healthier food consumption so diet quality can be improved (Sponselee et al., 2021). Acquiring the right eating habits can only be possible with qualified education and practice. If the necessary skills are acquired at an early age, they can become a living standard and create the basis of a healthy and sustainable life (Bahar and Yılmaz, 2021b). Through food education, various food skills such as nutrition, cooking, farming, agriculture or culinary culture can be taught to consumers (Kimura, 2011). For example, students who registered in an undergraduate food literacy course started to prepare more frozen and partially prepared food at the end of the semester in comparison to the initial situation (Beyan et al., 2019). Moreover, Shanley et al. (2009) reported that Spanish-speaking food service employees in Connecticut and Kentucky (United States) had low literacy and they managed to increase the food safety knowledge of these employees by giving traditional and distance education.

Another important point is that food producers can trick consumers more easily by using their low level food literacy knowledge. For example, some yogurts are labelled with the term of “gluten free” but traditional yogurt is already gluten free. Consumers can avoid being deceived by increasing their food related knowledge.

Nowadays, food systems are very complex and rooted in political and economic systems. However, personal and external factors have still impacted food decisions (Cullen et al., 2015). Thus, more

healthier food choices can be made by filling individuals' knowledge and skills gaps regarding foods. For that purpose, "food literacy" has emerged as a possible framework and encouraging approach. The aim of this review is to define food literacy and its components, to share results of current studies, to express connection between people's food literacy and healthy eating behaviour and introduce policies of food literacy.

## 2. DEFINING FOOD LITERACY AND ITS COMPONENTS

Food literacy is an emerging concept that can be utilized to define all of the knowledge, skills and behaviours that are essential for making healthy and environmentally friendly food choices. Although the term is increasingly used in different disciplines such as health, nutrition, agriculture, education and policy, there is no consensus among researchers regarding its meaning. Table 1 below includes some of the definitions extracted from the literature.

**Table 1.** Different definitions of food literacy

Source	Definition
Kolasa et al. (2001)	"The capacity of an individual to obtain, interpret and understand basic food and nutrition information and services as well as the competence to use that information and services in ways that are health enhancing."
Rawl et al. (2008)	"Focuses on food and nutrition information to help individuals make appropriate eating decisions."
Bellotti (2010)	"A concept involving three main domains; food, nutrition and health; agriculture, environment and ecology; and social development and equity."
Vidgen and Gallegos (2014)	"Food literacy is the scaffolding that empowers individuals, households, communities or nations to protect diet quality through change and strengthen dietary resilience over time. It is composed of a collection of inter-related knowledge, skills and behaviours required to plan, manage, select, prepare and eat food to meet needs and determine intake."
Azevedo Perry et al. (2017)	"Food literacy highlights interconnectivity among food, health and the environment, while fostering a greater understanding of food beyond traditional nutrition recommendations and cookery lessons."
Renwick and Powell (2019)	"Food literacy requires a critical engagement to understand food in our social and cultural life, and how the production and marketing of food represents a particular food system that generates inequity and is ecologically unsustainable."

Definitions of food literacy range from a specific knowledge or skill to make a healthy food choice to a general understanding of impacts of food choices on nutrition, health, environment and economy. There is also a variation in the characteristics or components of the food literacy in different definitions that causes difficulties in food literacy researches (Thompson et al. 2021). The connection between food literacy and healthy eating was examined in a study. 80 potential components of food literacy were evaluated for food literacy and 11 components were identified. They were grouped as planning and management, selection, preparation and eating (Vidgen and Gallegos, 2014). Likewise, Thomas et al. (2019) determined 5 main attributes of food literacy: (i) food and nutrition knowledge, (ii) food skills, (iii) self-efficacy and confidence (e.g. nutrition literacy and cooking self-efficacy), (iv) ecologic (e.g. socio-cultural influences and population-level determinants) and (v) food decisions such as preferring whole grain options more frequently. The authors stated that the attributes are interconnected and cannot be evaluated independently of one another. Park et al. (2020) offered a framework involved dimensions of food system and literacy. Production, processing, distribution, selection, preparation and cooking constitute food system dimension. Nonetheless, functional literacy, interactive literacy and critical literacy generate literacy dimension. By using this framework, the authors developed a comprehensive measurement tool which can be utilized to evaluate adults' food literacy levels and to evaluate comprehensively food literacy for related research disciplines. Teng and Chih (2022) proposed a new measurement tool which includes five dimensions to create the sustainable food literacy framework.

While most of the existing studies mainly focus on measuring individuals' skills, behaviours for healthy eating behaviours, in this study the authors developed a measurement tool to assess skills and behaviors which are necessary for implementing sustainable diets. It may contribute to evaluate individuals' understanding of interactions among food choices, the environment and society.

### **3. RECENT ACADEMIC ARTICLES, PROJECTS AND PROGRAMMES CONCERNING FOOD LITERACY**

#### **3.1. Academic articles**

When the term "Food literacy" was searched in the title of the article in "Google scholar", large numbers of articles were found in the literature. Surveys and interviews were commonly used in these studies. Studies showed that dietary habits are impacted by food literacy and greater emphasis should be placed on increasing nutrition awareness among consumers.

Amin et al. (2018) identified central food literacy themes for youth as food systems concepts, food safety and freshness, gardening environment, cooking environment and autonomy of meal preparation. Vamos et al. (2021) tried to define food literacy, as well as its connection to health literacy and other aspects influencing eating behaviors. They offered actions for K-12 schools to increase health and food literacy in the COVID-19 *pandemic*. Wijayaratne et al. (2021) interviewed with parents having 5-9 years old children to examine how the family's dietary gatekeeper transfers their food literacy skills. It was determined that food literacy capabilities of young children can be increased by engaging them in food selection, communicating the correlation between food and health, modelling healthy behaviors and involving them in simple food preparation tasks.

According to Mannir et al. (2021), food literacy interventions improved healthy foods and nutrition knowledge in general population. Nonetheless, in adolescents, food literacy interventions were found limited. In the study of Aktaş and Özdoğan (2016), it was shown that the undergraduate students that included in the research had inadequate food literacy knowledge and awareness and their families were identified as the most engaged stakeholder in food literacy. Ronto et al. (2016) asked different types of questions to 15 focus groups (adolescents aged 12-17 years) to investigate their viewpoints on the potential for food literacy to impact their dietary behaviours. It was found that adolescents do not turn their information into practice owing to a lack of food skills and they have finite information about food literacy macro aspects. It was also reported that they are very curious about improving their food skills. Furthermore, Kalkan (2019) showed the effect of gender on food literacy in adults and the author found that female participants' eating habits were better than male participants' eating habits in Türkiye. Palumbo et al. (2019) studied the influence of socio-economic status of individuals on food literacy, and it has been found that food literacy skills are impacted by the socio-economic status of individuals, and limited food literacy is prevalent across Italy. They stated that inadequate food literacy worsened individuals' health status.

Trieste et al. (2021) conducted a survey to investigate the correlations between food literacy, consumer profiling and purchasing behaviour. Their results confirmed that there was an association between food literacy and buying behaviour. Lee et al. (2022) reported that strengthening university students' food literacy skills (e.g. label reading and healthy food stockpiling) has positive effect on ecological eating behaviour towards sustainability. Nanayakkara et al. (2017) interviewed with food professionals within the Australian food system. A lot of attendees thought that food literacy education assists pupils in establishing healthier eating pattern. Durmuş et al. (2018) stated that Turkish consumers' knowledge of food safety and food literacy were limited and education could help them develop their food literacy and food safety information. Based on their findings, scientists, medical personnel and scientific magazines were the most confidential knowledge sources on the food safety. People may start to consume low amount of processed and low-nutrient foods when they are skilled in nutrition knowledge, food preparation and food planning (Colatruglio and Slater, 2016).

#### **3.2. Projects and programmes**

\*SmartFoodLogging (SFL) aims to develop a platform where health coaches and consumers come together for improving consumers' food literacy. In this platform, dietitians can see progress of users,

by this means they can prepare a more personalised nutrition plan (<https://www.eitfood.eu/projects/smartfoodlogging-sfl-2019>).

\*A nutrition knowledge center called “Nutrition Connections” published a report on healthy eating and food literacy situation in Ontario, Canada. In the project, it was aimed to specify food literacy programs and to determine deficiencies and priorities for more cooperative work in proping food literacy programming. Moreover, they examined the occasions and obstacles for continuing food literacy programming in community settings and they investigated financial support of these programs (<https://nutritionconnections.ca/wp-content/uploads/2019/09/Food-Literacy-Programming-in-Ontario-Report-Final.pdf>).

\*Food Literacy Center teaches children cooking, nutrition and gardening in low-income elementary schools in Sacramento in USA. They want to inspire kids to eat their vegetables and help kids develop healthy eating habits while they are young (<https://www.foodliteracycenter.org/cooking-school>).

\*“Increasing Food Literacy Competencies of Adults (FOODTR)” project was supported by the European Commission within the scope of Erasmus+ Program KA204-*Strategic Partnerships for Adult Education. The project was coordinated by Central Research Institute of Food and Feed Control from Türkiye and project partners were from Türkiye, Hungary, Spain and Estonia. In the project, 8 output materials (Practical Guide for Healthy Eating, Food Packaging and Storage Guide, Homemade Food Products Processing Techniques, Food Regulations Guidance, An Entrepreneur’s Guide for Homemade Food Production, Food Labelling Guide, Food Safety and Hygiene Guide and Guidance on Sustainable Food System) were created and e-learning platform of the project provides understandable educational materials and videos related to the components of the food literacy* (<https://www.foodtr.org/en/>).

\*The Food Literacy Project has been done by different partners in the USA. The Food Literacy Project is an education organization which utilizes food and farming as tools for personal development and social change. Farm-based food, nutrition, and environmental education can empower young people to be an agent who changes their families and communities (<https://foodliteracyproject.org>).

\*Food Literacy Project (FOODLIT-PRO) aimed to create a theoretical food literacy model and its components in the Portuguese cultural, economic and social contexts, construct and validate food literacy measures for adults and determine food literacy’s level and its determinants (<https://foodlitpro.wixsite.com/foodlitpro>).

#### **4. THE CORRELATION BETWEEN PEOPLE’S FOOD LITERACY KNOWLEDGE AND HEALTHY EATING BEHAVIOUR**

One of the most important risk elements for non-infectious diseases is unhealthy eating behaviour. Globally, it is estimated that improving dietary intake can prevent one in every 5 deaths. In this sense, dietary behavior of teenager is a source of anxiety because dietary intakes of adolescents are generally poor in underdeveloped countries (Ashoori et al., 2021). According to Vaitkeviciute et al. (2015), food literacy can shape dietary intake of teenager, and food skills and behaviours learned in adolescence are maintained later in life. Correlatively, López et al. (2014) concluded that an important number of kids and adolescents are obese or overweight in Spain and thus, healthy eating habits should be gained early in life. For instance, Laska et al. (2012) stated that young people helping dinner preparation were more inclined to food preparation behaviours 5 years later. Also, Caraher et al. (2013) reported that there was an increasement in vegetable consumption of teenagers after the attendance of the cooking programme with a chef.

Koltai and Kun (2016) measured the practical health literacy level in Hungarian society. A low level of self-reported health literacy indicated that people did not have a daily routine for practicing their skills. As a solution, it has been suggested that people’s attention to food information could be drawn and training could be provided for showing and telling how to utilize it. Similarly, in Hungary, a study conducted on functional health literacy revealed that people have difficulty interpreting food labels (Klinovszky et al., 2021). In a similar line, Kızgın and Tuncer (2020) stated that the essential efforts should be made to enhance food label literacy skills in the education system of Türkiye. It will positively affect the purchasing processes of people and ensure planful purchasing behavior. The study done by Yilmazel and Bozdoğan (2021) revealed that nutrition literacy was average among

Turkish youth and the food label usage was not enough. The dietary behaviours and food label usage had an important impact on nutrition literacy.

Many studies revealed that food selection, food preparation, fruit and vegetable consumption, self-efficacy and diet quality can be inclined positively by enhancing people's food and nutrition literacy (Doustmohammadian et al., 2020). Food literacy knowledge directs consumers making healthier food choices such as choosing healthier foods most of the time and filling half of your plate with vegetables every day (ODPH, n.d.).

## **5. FOOD LITERACY POLICIES**

Food literacy is the capability to make decisions that improve human health and a sustainable food system. Therefore, improving food literacy is a settled strategy used by governments to mention environmental, social, economic and political issues (Cullen, et al., 2015). In this regard, various models for understanding the food system and policy have been developed.

### **5.1. The role of food literacy policies on health preference**

Policies are strategies that regulate how people act and behave. Legislation, regulations, standards, guidelines, rules, and principles are all examples of policies. Policies are one tool for assisting consumers in developing food literacy, which increases their chances of developing and sustaining lifetime healthy eating habits and lowering their risk of diseases. They may influence self-efficacy, confidence and food decisions. Truman and Elliott (2019) proposed that common policy approaches in the food education areas, food security and public health are required to mention the impact of environmental factors in leading to unhealthy eating habits. It has been proposed that nutrition education may ensure an enabling environment for health preference learning, food regulations and standards may offer an enabling environment for health preference learning, help tackle difficulties in the expression of healthy preferences and spirit people to revalue available unhealthy preferences at the point of purchases. On the other hand, menu labelling may help cope barriers in the expression of healthy preferences as well as stimulate a food system response. Food and nutrition programs may ensure a conducive environment for health preference learning and may help tackle obstacles in the healthy preferences expression (Anonymous, 2019).

### **5.2. The role of food literacy policies on food security**

Food security is defined as having adequate food for an energetic and healthy life at all times, both physically and environmentally. Thus, food insecurity can limit a person's authority to fulfill food literacy and obtain sufficient diet quality. Even though food insecurity is often thought to be a problem in low-income nations, it is also becoming a rising community health issue in high salary nations. Individuals and households with a sufficient quantity of nutritious, safe food to meet their requirements, as well as residents of societies in which people can get culturally acceptable and nutritious diets via sustainable food systems which enhance community aplomb and social equity are examples of micro-level food security, while food security at the macro level refers to concerns that affect whole countries as well as global situations. Thus, food security affects people on a global, national, community, family, and individual level.

Food security should be addressed by food literacy policies that emphasize building knowledge, skills, and attitudes. Increasing access to healthy food among vulnerable populations as well as establishing public control over food and agricultural systems are stated as the primary food justice aims of policies (Renwick and Smith, 2020).

Food insecurity is caused by various environmental and individual factors. Food access, government food policies, living costs, and food price are possible environmental influences. Availability of employment, income, nutrition knowledge, and culinary abilities are all individual-level determinants. On the other hand, the price of food and household income are the most regularly documented underlying factors of food insecurity (Renwick and Smith, 2020). West et al. (2020) studied the role of a food literacy policies in enhancing food security and food literacy. It has been suggested that upstream interventions of food insecurity like access and affordability can enhance food security and food literacy skills. Besides, several studies demonstrated that significant benefits sustained over time which might be attributed to increased nutrition information and food literacy capabilities, which would help

attenders maximize their incomes (West et al., 2020). Nonetheless, some studies showed that while food literacy interventions improved food literacy skills but they did not show any effects of food security (Dollahite et al., 2014; Kaiser et al., 2015; Barbour et al., 2016). Thus, it is stated that the act of food literacy interventions in improving food security is still uncertain (West et al., 2020).

National policies are about food production, processing, and distribution; and hence they affect national agricultural production, international trade and economic dependence of country. International policies, on the other hand, are about policies that are equitable, fair, and effective in providing food production, processing, and distribution. These policies also provide effective provisions to food crises. International help programs, and sustainable agricultural practices can also be included in international policies (Renwick and Smith, 2020). Overall, food literacy policies have been found to help people develop their abilities, which are beneficial to their health. To accomplish so, policies must give food insecure people with knowledge, skills, and abilities, as well as educate the broader population about the problem's complexity, allowing them to criticize policies and actions that are simplistic or ineffectual.

## 6. CONCLUSION

Many medical problems are caused by a poor diet. Studies revealed that food literacy knowledge is still limited around the world, which may negatively affect health status of people. This situation showed the necessity of increasing food literacy skills of the population. Nonetheless, food literacy education includes many diverse disciplines such as cooking skills, food science, household food production, food safety and food policy. Thus, it is not easy to fill individuals' knowledge and skills gaps in terms of food literacy. However, campaigns, trainings, programmes and projects performed at national or international level can be a step to improve food awareness and knowledge among consumers. Also, national and international food policies can help people to develop their food related abilities.

## 7. REFERENCES

- Aktaş, N., Özdoğan, Y. (2016). Gıda ve beslenme okuryazarlığı. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 20(2), 146-153. <https://doi.org/10.29050/harranziraat.259105>
- Amin, S.A., Panzarella, C., Lehnerd, M., Cash, S.B., Economos, C.D., Sacheck, J.M. (2018). Identifying food literacy educational opportunities for youth. *Health Education & Behavior*, 45(6), 918-925. <https://doi.org/10.1177/1090198118775485>
- Anonymous (2019). Policies that influence food literacy among children and youth in Ontario. Retrieved from [https://nutritionconnections.ca/wp-content/uploads/2019/11/SOFL-Policy\\_FINAL4.pdf](https://nutritionconnections.ca/wp-content/uploads/2019/11/SOFL-Policy_FINAL4.pdf) (accessed 25.06.2022).
- Ashoori, M., Omidvar, N., Eini-Zinab, H., Shakibazadeh, E., Doustmohamadian, A., Abdar-Esfahani, B., Mazandarani, M. (2021). Food and nutrition literacy status and its correlates in Iranian senior high-school students. *BMC Nutrition*, 7(1), 1-10. <https://doi.org/10.1186/s40795-021-00426-2>
- Azevedo-Perry, E., Thomas, H., Samra, H.R., Edmonstone, S., Davidson, L., Faulkner, A., Petermann, L., Manafo, E., Kirkpatrick, S.I. (2017). Identifying attributes of food literacy: a scoping review. *Public Health Nutrition*, 20, 2406-2415. <https://doi.org/10.1017/S1368980017001276>
- Bahar, M., Yılmaz, M. (2021a). Gıda okuryazarlığı: öğretim programlarındaki yeri. *Abant İzzet Baysal Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 21(2), 497-518. <https://doi.org/10.17240/aibuefd.2021.21.62826-903018>
- Bahar, M., Yılmaz, M. (2021b). Gıda okuryazarlığı: bileşenlerin tespiti ve tanımlanması. *International Journal of Social Sciences and Education Research*, 7(1), 38-62. <https://doi.org/10.24289/ijsser.836121>
- Barbour, L.R., Ho, M.Y.L., Davidson, Z.E., Palermo, C.E. (2016). Challenges and opportunities for measuring the impact of a nutrition programme amongst young people at risk of food insecurity: A pilot study. *Nutrition Bulletin*, 41(2), 122-129. <https://doi.org/10.1111/nbu.12200>
- Bellotti, B. (2010). Food literacy: reconnecting the city with the country. *Agricultural Science*, 22(3), 29-34.

- Bevan, S., Wengreen, H., Dai, X. (2019). Increasing food literacy among college students. *NACTA Journal*, 64.
- Caraher, M., Seeley, A., Wu, M., Lloyd, S. (2013). When chefs adopt a school? An evaluation of a cooking intervention in English primary schools. *Appetite*, 62, 50-59. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2012.11.007>
- Cavassim, A.F., Taconeli, C.A., Schmidt, S.T., Tsupal, P.A., Almeida, B.C.C. (2016). Consumption of processed foods among children under two years of age: foods' pattern analysis. *Integrative Food, Nutrition and Metabolism*, 3(3): 318-323. <https://doi.org/10.15761/IFNM.1000151>
- Colatruglio, S., Slater, J. (2016). Challenges to acquiring and utilizing food literacy: perceptions of young Canadian adults. *Canadian Food Studies/La Revue canadienne des études sur l'alimentation*, 3(1), 96-118. <https://doi.org/10.15353/cfs-rcea.v3i1.72>
- Cullen, T., Hatch, J., Martin, W., Higgins, J.W., Sheppard, R. (2015). Food literacy: definition and framework for action. *Canadian Journal of Dietetic Practice and Research*, 76(3), 140-145. <https://doi.org/10.3148/cjdpr-2015-010>
- Cupar, D., Juric, M. (2019). Developing Food and Nutrition Literacy with the Croatian Facebook Group "Homemade Food for Babies". In *Information Literacy in Everyday Life. ECIL 2018. Communications in Computer and Information Science*, vol 989. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-13472-3\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-030-13472-3_1)
- Doustmohammadian, A., Omidvar, N., Shakibazadeh, E. (2020). School-based interventions for promoting food and nutrition literacy (FNLIT) in elementary school children: a systematic review protocol. *Systematic Reviews* 9, 87. <https://doi.org/10.1186/s13643-020-01339-0>
- Durmuş, H., Balci, E., Oral, B., Sonkaya, Z. (2018). Knowledge of food literacy and food safety among Turkish adults. *Erciyes Medical Journal*, 40(2). <https://doi.org/10.5152/etd.2018.0011>
- European Federation of the Associations of Dietitians (EFAD) (2018). Food literacy an added value for health. Retrieved from <http://www.efad.org/media/1573/efad-food-literacy-fact-sheet.pdf> (accessed 12.05.2022).
- Kalkan, I. (2019). The impact of nutrition literacy on the food habits among young adults in Turkey. *Nutrition Research and Practice*, 13(4), 352-357. <https://doi.org/10.4162/nrp.2019.13.4.352>
- Kimura, A.H. (2011). Food education as food literacy: privatized and gendered food knowledge in contemporary Japan. *Agriculture and Human Values* 28, 465-482. <https://doi.org/10.1007/s10460-010-9286-6>
- Kızılgın, Y., Tuncer, B. (2020). Determination of food label literacy according to Turkish food codex: a research on young consumers. *Business & Management Studies: An International Journal*, 8(2), 1849. <https://doi.org/10.15295/bmij.v8i2.1471>
- Klinovszky, A., Papp-Zipernovszky, O., Buzás, N. (2021). Building a house of skills-a study of functional health literacy and numeracy among patients with type 2 diabetes in Hungary. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(4), 1547. <https://doi.org/10.3390/ijerph18041547>
- Kolasa, K., Peery, A., Harris, N., Shovelin, K. (2001). Food literacy partners program: a strategy to increase community food literacy. *Topics in Clinical Nutrition*, 16(4), 1-10. <https://doi.org/10.1097/00008486-200116040-00002>
- Koltai, J., Kun, E. (2016). The practical measurement of health literacy in Hungary and in international comparison. *Orvosi Hetilap*, 157(50), 2002-2006. <https://doi.org/10.1556/650.2016.30563>
- Kucharczuk, A.J., Oliver, T.L., Dowdell, E.B. (2022). Social media's influence on adolescents' food choices: A mixed studies systematic literature review. *Appetite*, 168, 105765. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2021.105765>

- Krzysztozek, J., Laudanska-Krzeminska, I., Bronikowski, M. (2019). Assessment of epidemiological obesity among adults in EU countries. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 26(2). <https://doi.org/10.26444/aaem/97226>
- Laska, M. N., Larson, N. I., Neumark-Sztainer, D., Story, M. (2012). Does involvement in food preparation track from adolescence to young adulthood and is it associated with better dietary quality? Findings from a 10-year longitudinal study. *Public Health Nutrition*, 15(7), 1150-1158. <https://doi.org/10.1017/S1368980011003004>
- Lee, Y., Kim, T., Jung, H. (2022). Effects of university students' perceived food literacy on ecological eating behavior towards sustainability. *Sustainability*, 14(9), 5242. <https://doi.org/10.3390/su14095242>
- Leitzmann, C. (2009). Adequate diet of essential nutrients for healthy people. *The role of food, agriculture, forestry and fisheries in human nutrition*. Encyclopedia of Life support systems, 4, 1-9.
- Liu, J., Rehm, C.D., Onopa, J., Mozaffarian, D. (2020). Trends in diet quality among youth in the United States, 1999-2016. *Jama*, 323(12), 1161-1174. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.0878>
- López, S.T., Trescastro-López, E.M., Sánchez, M.E.G. (2014). A bibliometric study of food and nutrition education programmes and interventions in schools in Spain. *Revista española de nutrición humana y dietética*, 18(4), 184-193. <https://doi.org/10.14306/renhyd.18.4.83>
- Mannir, A., Lachyan, A.S., Simon, N.H. (2021). Food literacy programmes in general population: a systematic literature review. *International Journal of Recent Scientific Research*, 12(4), 41534-41536.
- Marino, M., Puppo, F., Del Bo, C., Vinelli, V., Riso, P., Porrini, M., Martini, D. (2021). A systematic review of worldwide consumption of ultra-processed foods: findings and criticisms. *Nutrients*, 13(8), 2778. <https://doi.org/10.3390/nu13082778>
- Murray, C.J.L. (2022). COVID-19 will continue but the end of the pandemic is near. *The Lancet*, 399, 417-419. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)00100-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)00100-3)
- Nanayakkara, J., Margerison, C., Worsley, A. (2017). Importance of food literacy education for senior secondary school students: Food system professionals' opinions. *International Journal of Health Promotion and Education*, 55(5-6), 284-295. <https://doi.org/10.1080/14635240.2017.1372695>
- Ontario Dietitians in Public Health (ODPH) (n.d.). Food literacy is making healthier food decisions most of the time. Retrieved from <https://www.odph.ca/food-decisions> (accessed 11.08.2022).
- OECD (2017). Obesity Update 2017. Retrieved from <https://www.oecd.org/els/health-systems/Obesity-Update-2017.pdf> (accessed 08.07.2022).
- Palumbo, R., Adinolfi, P., Annarumma, C., Catinello, G., Tonelli, M., Troiano, E., Vezzosi, S., Manna, R. (2019). Unravelling the food literacy puzzle: Evidence from Italy. *Food Policy*, 83, 104-115. <https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2018.12.004>
- Park, D., Park, Y. K., Park, C. Y., Choi, M. K., Shin, M. J. (2020). Development of a comprehensive food literacy measurement tool integrating the food system and sustainability. *Nutrients*, 12(11), 3300. <https://doi.org/10.3390/nu12113300>
- Quintero-Angel, M., Mendoza-Salazar, D. M., Martínez-Girón, J. (2022). Food fears and risk of loss of food heritage: a little-explored effect of food modernity and times of pandemic. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 28, 100499. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2022.100499>
- Qutteina, Y., Hallez, L., Raedschelders, M., De Backer, C., Smits, T. (2022). Food for teens: how social media is associated with adolescent eating outcomes. *Public Health Nutrition*, 25(2), 290-302. <https://doi.org/10.1017/S1368980021003116>
- Rawl, R., Kolasa, K.M., Lee, J., Whetstone, L.M. (2008). A learn and serve nutrition program: the food literacy partners program. *Journal of Nutrition Education and Behavior*, 40, 49-51. <https://doi.org/10.1016/j.jneb.2007.04.372>



- Renwick, K., Powell, L.J. (2019). Focusing on the literacy in food literacy: practice, community, and food sovereignty. *Journal of Family and Consumer Sciences*, 111, 24–30. <https://doi.org/10.14307/JFCS111.1.24>
- Renwick, K., Smith, M.G. (2020). The political action of food literacy: a scoping review. *Journal of Family and Consumer Sciences*, 112(1), 14-22. <https://doi.org/10.14307/JFCS112.1.14>
- Ronto, R., Ball, L., Pendergast, D., Harris, N. (2016). Adolescents' perspectives on food literacy and its impact on their dietary behaviours. *Appetite*, 107, 549-557. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2016.09.006>
- Shanley, E.L., Thompson, C.A., Dziura-Duke, C., Rodriguez, N. (2009). Innovative food safety education for low literacy food service employees using traditional versus distance learning methods. *Journal of the American Dietetic Association*, 9(109), A63. <https://doi.org/10.1016/j.jada.2009.06.200>
- Shim, J.S., Shim, S.Y., Cha, H.J., Kim, J., Kim, H.C. (2022). Association between ultra-processed food consumption and dietary intake and diet quality in Korean adults. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 122(3), 583-594. <https://doi.org/10.1016/j.jand.2021.07.012>
- Shipman, Z.D. (2020). Factors affecting food choices of millennials: how they decide what to eat?. *Journal of Tourismology*, 6(1), 49-62. <https://doi.org/10.26650/jot.2020.6.1.0036>
- Slater, J., Falkenberg, T., Rutherford, J., Colatruglio, S. (2018). Food literacy competencies: a conceptual framework for youth transitioning to adulthood. *International Journal of Consumer Studies*, 42(5), 547-556. <https://doi.org/10.1111/ijcs.12471>
- Sponselee, H., Kroeze, W., Poelman, M.P., Renders, C.M., Ball, K., Steenhuis, I.H. (2021). Food and health promotion literacy among employees with a low and medium level of education in the Netherlands. *BMC Public Health*, 21(1), 1-11. <https://doi.org/10.1186/s12889-021-11322-6>
- Steils, N., Obaidalaha, Z. (2020). “Social food”: Food literacy co-construction and distortion on social media. *Food Policy*, 95, 101932. <https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2020.101932>
- Teng, C.C., Chih, C. (2022). Sustainable food literacy: a measure to promote sustainable diet practices. *Sustainable Production and Consumption*, 30, 776-786. <https://doi.org/10.1016/j.spc.2022.01.008>
- Thomas, H., Azevedo Perry, E., Slack, J., Samra, H.R., Manowiec, E., Petermann, L., Manafò, E., Kirkpatrick, S.I. (2019). Complexities in conceptualizing and measuring food literacy. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 119, 563-573. <https://doi.org/10.1016/j.jand.2018.10.015>
- Thompson, C., Adams, J., Vidgen, H.A. (2021). Are we closer to international consensus on the term ‘Food Literacy’?: a systematic scoping review of its use in the academic literature (1998-2019). *Nutrients*, 13(6), 2006. <https://doi.org/10.3390/nu13062006>
- Trieste, L., Bazzani, A., Amato, A., Faraguna, U., Turchetti, G. (2021). Food literacy and food choice—a survey-based psychometric profiling of consumer behaviour. *British Food Journal*, 123(13), 124-141. <https://doi.org/10.1108/BFJ-09-2020-0845>
- Truman, E., Elliott, C. (2019). Barriers to food literacy: a conceptual model to explore factors inhibiting proficiency. *Journal of Nutrition Education and Behavior*, 51(1), 107-111. <https://doi.org/10.1016/j.jneb.2018.08.008>
- Truman, E., Bischoff, M., Elliott, C. (2020). Which literacy for health promotion: health, food, nutrition or media?. *Health Promotion International*, 35(2), 432-444. <https://doi.org/10.1093/heapro/daz007>
- Vaitkeviciute, R., Ball, L.E., Harris, N. (2015). The relationship between food literacy and dietary intake in adolescents: a systematic review. *Public Health Nutrition*, 18(4), 649-658. <https://doi.org/10.1017/S1368980014000962>
- Vamos, S.D., Wacker, C.C., Welter, V.D., Schlüter, K. (2021). Health literacy and food literacy for K-12 schools in the COVID-19 pandemic. *Journal of School Health*, 91(8), 650-659. <https://doi.org/10.1111/josh.13055>

Vidgen, H.A., Gallegos, D. (2014). Defining food literacy and its components. *Appetite*, 76, 50–59. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2014.01.010>

West, E.G., Lindberg, R., Ball, K., McNaughton, S.A. (2020). The role of a food literacy intervention in promoting food security and food literacy-OzHarvest's NEST program. *Nutrients*, 12(8), 2197. <https://doi.org/10.3390/nu12082197>

WHO (2019). World hunger is still not going down after three years and obesity is still growing-UN report. Retrieved from <https://www.who.int/news/item/15-07-2019-world-hunger-is-still-not-going-down-after-three-years-and-obesity-is-still-growing-un-report> (accessed 15.03.2022)

Wijayaratne, S., Westberg, K., Reid, M., Worsley, A. (2021). Developing food literacy in young children in the home environment. *International Journal of Consumer Studies*, 1-13. <https://doi.org/10.1111/ijcs.12750>

Yilmazel, G., Bozdoğan, S. (2021). Nutrition literacy, dietary habits and food label use among Turkish adolescents. *Progress in Nutrition*, 23, e2021007. <https://doi.org/10.23751/pn.v23i1.8563>

**EXAMINATION OF HERD MANAGEMENT SYSTEM MODULES AND DESIGN OF AN  
IoT SUPPORTED MODEL**

**SÜRÜ YÖNETİM SİSTEM MODÜLLERİNİN İNCELENMESİ VE İOT DESTEKLİ BİR  
MODELİN TASARIMI**

**Kamil Aykutaalp GÜNDÜZ<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Öğr. Gör. Dr., Selçuk Üniversitesi, Kadınhanı Faik İçil Meslek Yüksekokulu, Elektronik ve Otomasyon Bölümü, Konya, Türkiye.

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2290-5447>

**Fatih BAŞÇİFTÇİ<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>Prof. Dr., Selçuk Üniversitesi, Teknoloji Fakültesi, Bilgisayar Mühendisliği Bölümü, Konya, Türkiye

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1679-7416>

**Züleyha YILMAZ ACAR<sup>3</sup>**

<sup>3</sup>Dr. Öğr. Üyesi., Selçuk Üniversitesi, Teknoloji Fakültesi, Bilgisayar Mühendisliği Bölümü, Konya, Türkiye

<sup>3</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4488-478X>

**ÖZET**

Dünya üzerinde nüfus artışına bağlı olarak gıda tüketimi ve gıdaya ulaşım ihtiyacı da oldukça artmaktadır. Hayvancılık, tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de nüfusun artışına bağlı olarak insanların dengeli beslenmesinde, yeterli gıdayı almalarında ve birçok alanda hem gıda hem de endüstri hammadde olarak kullanıldığından önemli bir konuma sahiptir. Büyükbaş hayvancılık ve besicilik, inek, sığır, öküz, manda gibi hayvanların yetiştiriciliği demektir. Besicilik hem süt hem de kırmızı et üretiminde ülkenin gelir kaynaklarına doğrudan etki etmektedir. Tarım ve hayvancılık alanlarında mevcut uygulama alanlarındaki verimi artırmak ve geç teşhis edilen hastalıkları azaltmak amacıyla bilgi iletişim teknolojileri kullanılarak sürekli güncel uygulamalar geliştirilmektedir. Büyükbaş çiftlik hayvanlarının kendi ortamlarındaki hareketlerini insan gözüyle izlemek ve kayıt altına almak zor işlerden biridir. Genellikle alışkanlıklarına göre hareket eden hayvanlarda bu hareketleri etiketlemek ve yetkili veteriner hekimlere iletmek zordur. Hayvanların davranışlarının kayıt altına alınması, yorumlanması ve hastalıklara karşı erken teşhisin sağlanması için sürü takip sistemleri geliştirilmeye devam edilmektedir. Biyoalgılayıcılar, hayvanlarda fiziksel ve davranışa dayalı vücut tepkilerini elektronik sinyallerle çevirme özelliklerine sahip cihazlardır. Hayvancılıkta, sürü yönetimini gerçek zamanlı şekilde izlemek ve değerlendirmek, verimlilik ve hayvan refahının artırılması bakımından son derece önemli bir ihtiyaçtır. Nesnelerin İnterneti (IoT), bu sistemler için etkileyici çözümler sunan ve kullanılan bir teknolojidir. Haberleşme teknolojilerinin ve yapay zekânın kuvvetli bir şekilde ilerlemesiyle günlük hayat içerisinde verilerin bulut sisteminde toplanması, yorumlanması, kayıt altına alınarak izlenmesi ve karar verme algoritmalarının oluşturulması büyük önem kazanmaktadır. Bu çalışmada, birçok çiftlik ortamı incelenerek, bir sürü yönetim sistemi içinde bulunması gereken modüllerin analizi yapılmış, büyükbaş hayvanların vücutlarına takılabilen IoT teknolojisi ile uyumlu, biyoalgılayıcılardan alınan verileri kablosuz olarak iletimini sağlayıp, kayıt altına alabilen, grafiksel olarak kullanıcıya sunabilen, web tabanlı olarak izlenebilen bir sistem çözümü sunulmuştur. Önerilen sistem ile çiftlik işletme sahiplerinin sürü takibinde kolaylık sağlaması hedeflenmiştir. Çiftliklerin teknolojik altyapılarının iyileştirilmesinin verimliliğe etkisi göz önüne alınmış, çalışma kapsamında IoT tabanlı, gerçek bir sürü yönetim sisteminin hem yazılım hem de donanım olarak geliştirilmesi hedeflenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Algılayıcılar, nesnelerin interneti, sürü yönetimi, sürü takibi, verimlilik.

## ABSTRACT

Due to the increase in population the world, the need for food consumption and transportation to food is also increasing. Livestock has an important position in our country, as it is in the whole world, as it is used as both food and industrial raw materials in many areas, for people to have a balanced diet, to get enough food, depending on the increase in population. Cattle raising and fattening means the breeding of animals such as cows, cattle, oxen, and buffalo. Livestock has a direct impact on the country's income sources in both milk and red meat production. Up-to-date applications are constantly being developed by using information and communication technologies to increase efficiency in the existing application areas in the fields of agriculture and animal husbandry and to reduce late-diagnosed diseases. It is one of the most difficult tasks to monitor and record the movements of cattle in their own environment with human eyes. It is difficult to label and communicate these movements to authorized veterinarians in animals that generally act according to their habits. Herd tracking systems continue to be developed to record and interpret the behavior of animals and to provide early diagnosis against diseases. Biosensors are devices that have the ability to translate physical and behavioral body responses in animals with electronic signals. Real-time monitoring and evaluation of herd management in livestock is an extremely important need to increase productivity and animal welfare. The Internet of Things (IoT) is a technology that provides impressive solutions for these systems and is used. With the strong progress of communication technologies and artificial intelligence, it is of great importance to collect, interpret, record, and monitor data in the cloud system and to create decision-making algorithms in daily life. In this study, many farm environments have been examined, the modules that should be included in a herd management system have been analyzed, and a web-based monitor that is compatible with the IoT technology that can be attached to the bodies of cattle can transmit and record the data received from biosensors wirelessly, can be recorded, can be presented to the user graphically, and can be monitored on a web basis system solution is presented. The proposed system is aimed to provide convenience for farm business owners in herd follow-up. Considering the effect of improving the technological infrastructure of the farms on productivity, it is aimed to develop an IoT-based, real herd management system both in software and hardware.

**Keywords:** Herd management, herd tracking, internet of things, productivity, sensors.

## 1. GİRİŞ

Günümüzde hayvandan elde edilen gıdalara ihtiyaç, artan nüfus ile doğru orantılı olduğundan hayvan sayısı da artmaktadır. Hayvan sayısının artışına bağlı olarak geniş alana sahip yerleşke ve bu hayvanlarla ilgilenmesi gereken insan gücü ihtiyacı da artmaktadır.

Endüstride birçok akıllı çiftlik uygulamaları ve sürü yönetim sistemleri bulunmaktadır. Yapılan uygulama ve yazılımların birçoğunda çiftlik ortamının turnike sistemiyle şekillendirilmesi, ahırın fiziksel olarak donatılması gerekliliği vardır. Bu çalışmada hem bir sürü yönetimi hem de bir çiftlik yönetiminde olması gereken asgari tüm modülleri içinde barındıran bir model tasarlanmıştır. Sürü yönetim sistemi içinde, verilerin toplanıp, analiz edilerek, gerekli kişilere bildirmesine böylece erken teşhis ve tedavi uygulamasına yardımcı olan dinamik bir model önerilmiştir.

## 2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

2014 yılında yapılan bir çalışmada Türkiye'nin Karaman ilinde küçükbaş hayvan çiftliklerindeki sürüler incelenmiş ve sürü yönetim sistemleri alanında bilişim teknolojilerinden faydalanan ve eğitim almış personeller incelenmiştir. (Şahinli, 2014). Taşkın ve ark., Türkiye'nin İzmir, Çanakkale ve Balıkesir illerindeki 234 adet keçi çiftliğindeki sürü yönetim durumunu incelemiştir (Taşkın et. al, 2017). Özbeyaz ve ark., hayvanların beden dili üzerine yapılan bir araştırmada, sürü yönetiminin hayvanların refahı ve rahatlıkları için nasıl olması gerektiği incelenmiştir (Özbeyaz ve Özbostancı, 2020). Türkiye'deki bölgelere ait süt sığırlarının robotik sürü yönetim sistemlerine sahip olma durumlarının analizini yapan bir çalışma incelenmiştir (Çıkrıkçı, 2019). İzmir ilinin Ödemiş ilçesinde bulunan sığırcılık işletmelerinin sürü yönetim teknikleri incelenmiştir (Tatar ve Esenbuğa, 2022). Türkiye'nin Niğde ili sürü yönetim personeli kurs programında yer alan çiftçilerin, koyun yetiştirme faaliyetleri üzerine yapılan bir araştırmada, sürü yönetim sistemlerinin öneminden bahsedilmiştir (Çınar ve Ceyhan,

2021). Süt sığırcılığında sürü yönetimi alanında kullanılan çağdaş teknoloji uygulamaları üzerine değerlendirmeler incelenmiştir (Tömek, 2006).

### 3. MATERYAL VE METOD

#### *PHP script dili*

PHP dilinin günümüzde halen geliştirilmesine devam edilmektedir (Avcı, 2010). PHP kısaca web tabanlı uygulamalar geliştirmeye ve dinamik web sayfaları hazırlamaya yarayan, popüler ve ücretsiz scriptleri barındıran piyasadaki birçok veri tabanı sunucusu ile performanslı çalışan bir programlama dilidir. Dinamik web sayfalarını geliştirmeye yarayan dil olan PHP, en iyi veri tabanı bağlantı performansını MySQL ile ve Linux işletim sistemi altında gösterir.

#### *MySQL veri tabanı*

MySQL ilişkisel bir veri tabanı yönetim sistemidir. Sunucuda, veri tabanı oluşturmak, kullanmak, değiştirmek ve veri tabanı sistemleri ile ilgili tüm yönetimsel gereklilikleri sağlamak amacıyla geliştirilmiştir (İşcan, 2013). Birçok işletim sistemi ile uyumlu çalışmasına rağmen en iyi performansı Linux işletim sistemi altında sergilemektedir.

#### *Apache web sunucusu*

Dünya üzerinde birçok ticari firmanın ve büyük veriye ihtiyaç duyan sunucuların üzerinde kurulu olan bir web servis hizmeti sunmaya yarayan programdır. Yüksek performanslı ve kararlı bir yapıya sahiptir (Gökalp, 2016). Apache bir web sunucusu olarak adlandırılrsa da donanımsal bir server değildir. Sadece sunucuda çalışan bir hizmettir.

### 4. UYGULAMA

Tasarlanan modelde bulunan modüller Şekil 4.1’de gösterilmiştir. Mevcut sürü yönetim sistemlerinden farklı olarak IoT yönetimi ve bu IoT cihazlarına bağlı sensörlerin yönetildiği kısımlar modelde sunulmuştur.



Şekil 4.1. Tasarıma ait modüller

Modüller başlığı; sistemin içerisinde barındırdığı modüllerin tanıtımının ve açıklamalarının bulunduğu kısımdır. Bu modüller sırasıyla:

- Hayvan yönetimi: Hayvanlara ait tüm bilgilerin yönetildiği kısımdır.
- Grup (bölme) yönetimi: Hayvanların gruplandırılmalarının yönetildiği kısımdır.
- Gebelik ve tohumlama kontrol yönetimi: Hayvanların doğum yönetimi yapılan kısımdır.

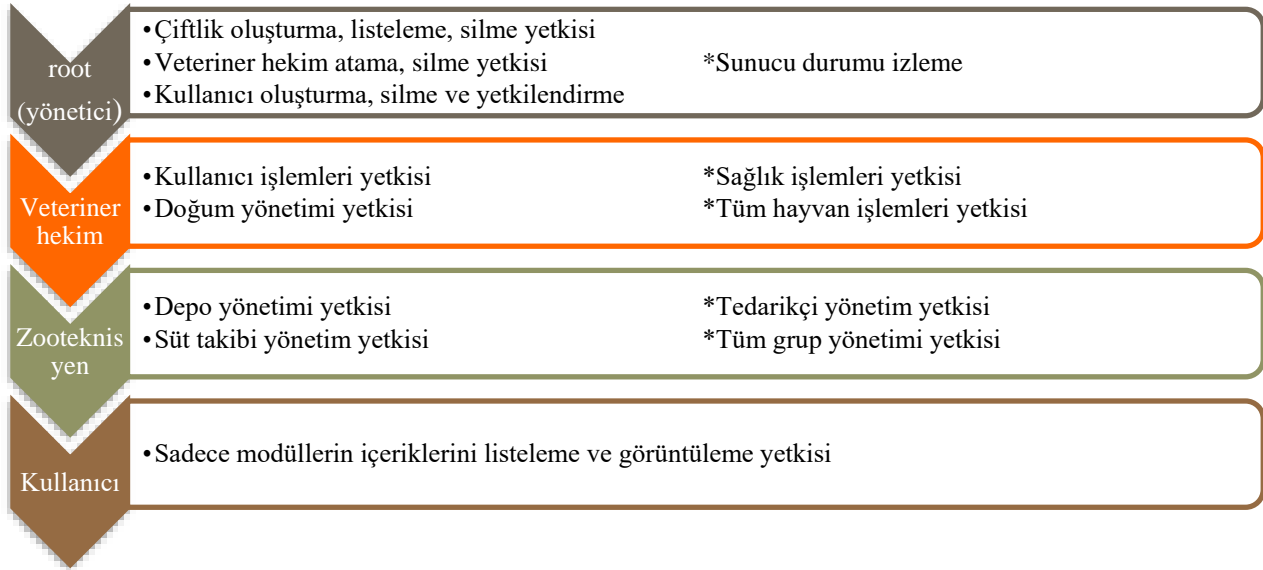
- Süt takibi yönetimi: Günlük süt üretim takibinin yapıldığı kısımdır.
- Tedarikçi yönetimi: Tedarik sağlayıcıların kayıtlarının tutulduğu kısımdır.
- Sağlık takibi yönetimi: Aşı ve veteriner hekim uygulamalarının yönetildiği kısımdır.
- Depo takibi yönetimi: Çiftlik yem stoklarının takip edildiği kısımdır.
- Uyarı sistemi (alarm): Hayvanların normal dışı davranışlarının yorumlandığı kısımdır.
- **IOT yönetimi: Hayvanlara takılan cihazların tanımlandığı kısımdır.**
- **Sensör yönetimi: Cihazlar üzerindeki sensörlerin tanımlandığı kısımdır. (Vücut ısısı, adımsayısı, konum vb.)**

#### 4.1. Kullanıcı yetkilendirme

Modelde kullanıcıların giriş yapılabilmesi için sistem tarafından sağlanan bir kullanıcı adı ve şifre oluşturulması gerekmektedir. Bu erişim bilgileri, sistem yöneticisi tarafından sağlanmaktadır. Modelde 4 adet kullanıcı yetkilendirilmesi mevcuttur. Bunlar;

- root (yönetici) yetkisi
- Veteriner hekim yetkisi
- Zootechnisyen yetkisi
- Kullanıcı yetkisi

Model içerisinde oluşturulan ve yetkilendirilen kullanıcı çeşitleri ve yetki durumları Şekil 4.2'de gösterilmiştir.



Şekil 4.2. Kullanıcı ve yetki hiyerarşisi

Root yetkisi, sistemin veri tabanı kısmında oluşturulmuş ve tüm çiftliklerin tüm kullanıcı yetkisi sahipliğinin üzerinde bir yetkidir. Root kullanıcı yetkisiyle sisteme giriş yapıldığında kullanıcıyı karşılayan ekran Şekil 4.3'te gösterilmiştir.



Şekil 4.3. Root (yönetici) ekranı

Root (yönetici) ana sayfasında 4 ana menü ve bu menülere ait alt menüler mevcuttur. Bunlar:

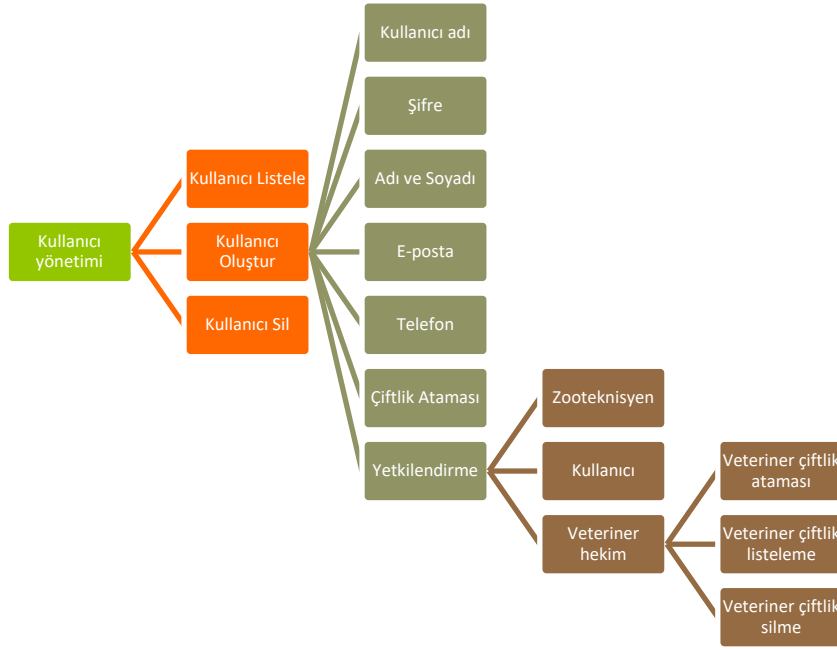
Ana\_ekran; bu menü sistem içerisinde kayıtlı toplam çiftlik sayısını, mevcut çiftliklere ait toplam kullanıcı sayısını, sistem üzerindeki toplam hayvan sayısını ve hayvanlarda tanımlı toplam IoT cihaz sayısını göstermektedir.

Çiftlik yönetimi; sistem üzerinde kayıtlı çiftliklerin listesini, yeni çiftlik oluşturma ve çiftlik silme işlemlerinin yapıldığı kısımdır.

Kullanıcı yönetimi; sistem içerisinde mevcut kullanıcıların listelenmesi, kullanıcı oluşturma, kullanıcı silme ve yetki ataması yapılan kısımdır. Bunlar:

- Kullanıcı listele; çiftliklere ait kullanıcıları listeler.
- Kullanıcı oluştur; çiftliklere yeni bir kullanıcı oluşturur.
- Kullanıcı sil; kullanıcı siler.
- Veteriner hekim çiftlik ataması
- Veteriner hekim çiftlik listeleme
- Veteriner hekim çiftlik silme

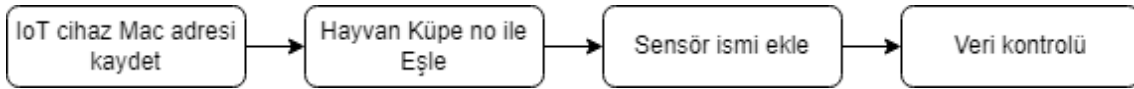
Veteriner hekimlerin çiftliklere ataması da bu bölümde yapılmaktadır. Sistem, bir veterinerin birçok çiftlikte aynı anda görevlendirilmesine olanak sağlar. Veteriner hekim üzerine atanmış bir çiftliğin yetki sonlandırılması da yapılır. Şekil 4.4'de kullanıcı yönetimi kısmında girilen ve listelenen bilgiler gösterilmiştir.



Şekil 4.4. Kullanıcı yönetimi bilgileri

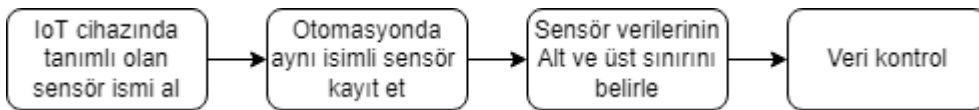
Sunucu izle; otomasyon sisteminin yapılandırıldığı ve çalıştığı sunucuya ait bilgilerin, mevcut işlemci (CPU), bellek (RAM) kullanım durumlarının, mevcut veri tabanı tablolarının kullandığı sabit disk durumunun izlendiği kısımdır.

IoT cihaz eklenirken izlenmesi gereken adımlar Şekil 4.5'te gösterilmiştir.



Şekil 4.1. IoT cihazı ekleme adımları

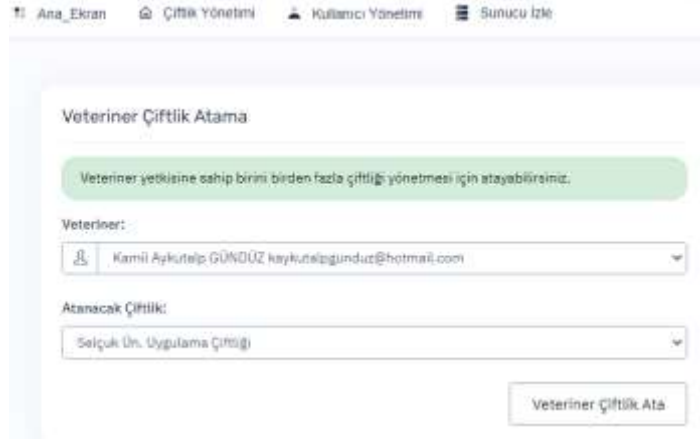
Veteriner hekim olarak sisteme giriş yapıldığında sisteme eklenen bir cihazın sensör verilerinin kontrolü sağlanabilir. Otomasyona sensör eklenirken izlenmesi gereken adımlar Şekil 4.6'da gösterilmiştir.



Şekil 4.6. Sensör ekleme adımları

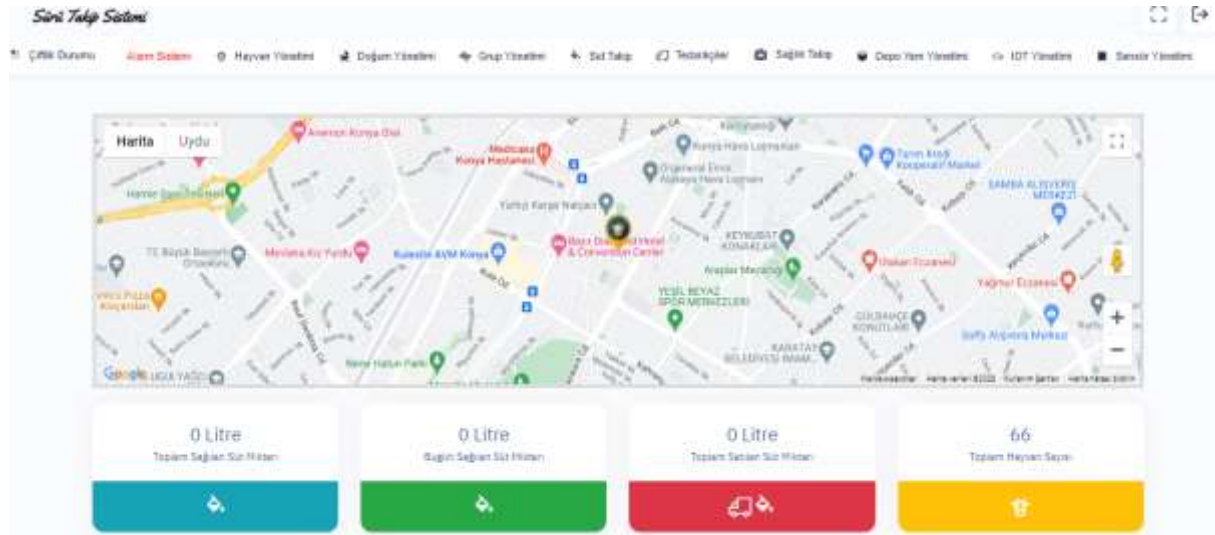
Ayrıca istenildiğinde yeni bir kullanıcı ve görev ataması yapılarak, istenilen yetki sınırlaması çiftliğin kendi yöneticisi tanımlanarak gerçekleştirilebilir. Herhangi bir veteriner hekimin birçok farklı çiftlikte yetkilendirmesi yapılabilmektedir. Sistem, her bir çiftliğe ait bir veteriner hekim atandığı gibi aynı veteriner hekim farklı çiftliklerde de görev alabilir durumda oluşturulmuştur. Veteriner hekim atamasının yapıldığı kısım Şekil 4.7'de gösterilmiştir. Bu kısım kullanıcı yönetimi altında bulunan alt menüde veteriner çiftlik atama bölümündedir.





Şekil 4.7. Veteriner hekim çiftlik atama ekranı

Belirli bir çiftlik yönetimine yetki ataması yapılan veteriner hekim sisteme girdiğinde eğer birden fazla çiftlik ataması yapıldı ise çiftlik seçim sayfası karşısına gelir. Tek bir çiftlik ataması yapıldı ise yetkilisi olduğu çiftlik sayfasına giriş yapabilir. Veteriner hekim yetkisiyle sisteme dâhil edilen kullanıcının model arayüzü Şekil 4.8’de gösterilmiştir.



Şekil 4.8. Veteriner hekim sistem ekranı

## 5. SONUÇ

Geliştirilen model, genel olarak bir çiftlik içerisinde gerekli olan ve piyasada bulunan diğer sürü takip yazılımlarının sahip olduğu tüm modüllere ek olarak Nesnelerin İnterneti uyumlu geliştirici kartların yönetiminin de yapılabildiği şekilde tasarlanmıştır. Piyasada bulunan hali hazırda hizmet veren web tabanlı sürü yönetim sistemleri ile karşılaştırıldığında oluşturulan mevcut sistemin IoT cihazlara uyumlu olma özelliğinin ön plana çıktığı görülmektedir. Mevcut olan sürü yönetim sistemleri ile fiyat karşılaştırması Tablo 5.1’de gösterilmektedir.

**Tablo 5.1.** Tasarlanan modelin ülkemizde satılan diğer sürü yönetim sistemleri ile fiyat karşılaştırması

Sürü Yönetim Sistem Adı	Çiftlik Sayısı	Hayvan Sayısı	Kullanıcı Sayısı	Menşei	Yıllık yaklaşık fiyat (USD\$)
EcoHerd (Web)	1	100	1	İsrail	300
suru-yonetimi.com (Web)	1	100	1	Türkiye	65
Afimilk (Desktop)	1	50	1	İsrail	360
ciftlikyonetimi.com (Web)	1	Sınırsız	1	Türkiye	60
Delaval (Desktop)	1	100	2	Hollanda	300
MetfarmGEA (Desktop)	1	100	1	Almanya	313
MlgramTR (Web)	Sınırsız	Sınırsız	Sınırsız	Türkiye	35
Nedapvelos (Desktop)	1	100	1	Hollanda	335
Mobilciftlik.com (Web)	1	100	1	Türkiye	30
EnterSYS (Web)	1	100	1	Türkiye	70
<b>*Tasarlanan Model (Web)</b>	Sınırsız	Sınırsız	Sınırsız	Türkiye	20

\*Tasarlanan sistemin yıllık fiyatı, hosting ve domain hizmetinin yıllık maliyetidir.

## 6. KAYNAKLAR

Taşkın T., Koşum N., Engindeniz S., Savran A., Aktürk D., Kesenkaş H., Uzmay A., Gökmen M., (2017). “İzmir, Çanakkale ve Balıkesir İlleri Keçi İşletmelerinde Sürü Yönetim Uygulamaları Üzerine Bir Araştırma”, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 54 (3), 341-349.

Tatar Y.E., Esenbuğa N., (2022), “İzmir İli Ödemiş İlçesi Sığırcılık İşletmelerinin Sürü Yönetim Tekniklerinin İncelenmesi”, Palandöken Journal of Animal Sciences Technology and Economics, 1 (1), 16-23.

Tömek B., (2007), “An evaluation on modern technology applications used in dairy cattle herd management”. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bornova-İzmir.

Özbeyaz C., Özbostancı S., (2020), “İneklerde Beden Dili ve Sürü Yönetimi”, Bahri Dağdaş Hayvancılık Araştırma Dergisi, 9 (2), 148-161.

M. Şahinli, (2014), "Koyunculuk sürü yönetimi: karaman ili örneği", Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi, vol. 29, no. 2, pp. 113-120. doi:10.7161/anajas.2014.29.2.113-120.

İşcan A., (2013), MySQL nedir? [online], <https://www.ahmetiscan.web.tr/mysql-nedir-nerelerde-kullanilir-ozellikleri-nelerdir/> [Ziyaret Tarihi: 3 Şubat 2023].

Çıkrıkçı A.C., (2019), “Türkiye’de Robotik Sağım Sistemiyle Çalışan İşletmelerin Sürü Yönetim Performans Değerlerinin Belirlenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.

Çınar S., Ceyhan A., (2021), “Niğde İli Sürü Yönetim Personeli Kurs Programında Yer Alan Çiftçilerin Koyun Yetiştirme Faaliyetleri Üzerine Bir Araştırma”, Tarım, Gıda, Çevre ve Hayvan Bilimleri Dergisi, 2 (1), 44-60.

Avcı, M., 2010, PHP nedir ve neler yapılabilir? [online], <https://www.php.org/php-nedir-ve-neler-yapilabilir/> [Ziyaret Tarihi: 2 Ocak 2023].

Gökalp G., (2016), Apache Kafka’ya Giriş [online], <https://www.gokhan-gokalp.com/apache-kafka-nedir/> [Ziyaret Tarihi: 1 Ocak 2023].

**TİFLİS BÖLGESİNDE YETİŞTİRİLEN *CUCURBITA MOSCHATA* DUCHESNE  
MEYVESİNİN BAZI BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**  
**DETERMINATION OF SOME BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF *CUCURBITA*  
*MOSCHATA* DUCHESNE FRUIT GROWED IN THE TBILISI REGION**

**Zehra Tuğba MURATHAN<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Doç. Dr., Malatya Turgut Özal Üniversitesi, Battalgazi MYO, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü,  
Malatya, Türkiye.

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1468-7240>

**Nurcan ERBİL<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>Dr. Öğr. Üyesi, Ardahan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Hemşirelik Bölümü, Ardahan,  
Türkiye.

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9553-2306>

**Mehmet ARSLAN<sup>3</sup>**

<sup>3</sup>Doç. Dr., Ardahan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Sağlık Yönetimi Bölümü, Ardahan,  
Türkiye.

<sup>3</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9015-1798>

## ÖZET

Butternut balkabağı dünyanın birçok yerinde yetiştirilen, hem yemek hem de tatlı yapımında sıklıkla kullanılan bir meyve türüdür. Meyvelerinin yanı sıra çiçekleri ve çekirdekleri de dünyanın farklı bölgelerinde gıda amaçlı kullanılmaktadır. Dünya genelinde en fazla balkabağı üretici ülke Çin'dir. Daha önce yapılan çalışmalar, balkabağı meyve etinin içerdiği bileşenlerden kaynaklı olarak sağlığa yararlı etkilerinin bulunduğunu bildirmişlerdir. İçerdiği lif, vitamin, mineral, sekonder metabolitler gibi sağlığa yararlı maddeler sayesinde birçok diyet programında balkabağına yer verilmektedir. Bu çalışmada Tiflis/Gürcistan şehrinde yetiştirilen *Cucurbita moschata* Duchesne meyvelerinin toplam fenolik madde içeriği, toplam flavonoid madde içeriği, toplam askorbik asit içeriği, üç farklı metotla (ABTS, DPPH, FRAP) antioksidan kapasite miktarı, antibakteriyel aktivite ve mutajenik aktivite değerleri belirlenmiştir. Örneklerin toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde ve toplam askorbik asit içerikleri sırasıyla 100.08, 10.4 ve 381.5 mg/100g olarak belirlenmiştir. Çalışmada analiz edilen bu bileşenler biyoaktif bileşenler olarak da adlandırılmaktadır. Bir meyvedeki biyoaktif bileşen içeriği meyvenin antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleriyle de doğru orantılıdır. Örneklerin ABTS, DPPH ve FRAP aktivite değerleri sırasıyla % 68.03, % 60.58 ve 495.9 µg FeII/g olarak tespit edilmiştir. Radikal süpürücü aktivitenin % 50'nin üzerinde olması önem arz etmektedir. Örnek ekstraktları çalışmada kullanılan 4 test bakterisine karşı da antibakteriyel aktivite sergilemiştir. En duyarlı türlerin sırasıyla *Escherichia coli* ATCC 8739 ve *Bacillus licheniformis* ATCC 14580 olduğu görülmüştür. Kabak örnekleri özellikle bu iki bakteri şuşuna karşı antimikrobiyal ajan olarak kullanılabilir. Meyve örnekleriyle yapılan çalışmalarda örneklerin mutajenite dozlarının belirlenmesi önemlidir. Çalışmada ekstraktların denenen hiçbir dozunda TA98 ve TA100 şuşlarında mutajen etki görülmemiştir. Bu durum da meyvelerin tüketim miktarlarında mutajenite kaynaklı sınırlandırma yapılmasını devre dışı bırakmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Antibakteriyel, Antioksidan, Bal Kabağı, Fenolik, Flavonoid, Mutajen.

## ABSTRACT

Butternut squash is a type of fruit that is grown in many parts of the world and is frequently used in both food and dessert production. In addition to its fruits, its flowers and seeds are also used for food in different parts of the world. The largest squash producing country in the world is China. Previous studies have reported that squash fruit flesh has beneficial effects on health due to the components it contains. Thanks to the beneficial substances such as fiber, vitamins, minerals, and secondary metabolites, squash is included in many diet programs. In this study, total phenolic content, total flavonoid content, total ascorbic acid content, antioxidant capacity amount by three different methods (ABTS, DPPH, FRAP), antimicrobial activity and mutagenic activity values of *Cucurbita moschata* Duchesne fruits grown in Tbilisi/Georgia were determined. Total phenolic substance, total flavonoid substance and total ascorbic acid contents of the samples were determined as 100.08, 10.4 and 381.5 mg/100g, respectively. These components analyzed in the study are also called bioactive components. The content of bioactive components in a fruit is directly proportional to the antioxidant and antimicrobial activities of the fruit. ABTS, DPPH and FRAP activity values of the samples were determined as 68.03%, 60.58% and 495.9 µg FeII/g, respectively. It is important that the radical scavenging activity is above 50%. The sample extracts exhibited antimicrobial activity against the 4 test bacteria used in the study. The most susceptible strains were *Escherichia coli* ATCC 8739 and *Bacillus licheniformis* ATCC 14580. Squash samples can be used as antimicrobial agents especially against these two bacterial strains. In studies with fruit samples, it is important to determine the mutagenicity doses of the samples. In the study, no mutagenic effect was observed in TA98 and TA100 strains at any dose of the extracts tested. This circumstance disables the mutagenicity-based limitation in the consumption amounts of fruits.

**Keywords:** Antimicrobial, Antioxidant, Squash, Phenolic, Flavonoid, Mutagen.

## 1. GİRİŞ

Balkabağı *Cucurbita moschata* Duchesne hemen hemen dünyanın her yerinde yetiştirilen ve Cucurbitaceae familyasına mensup bir türdür (Dhiman ve ark., 2012). 2021 yılında dünya kabak üretim miktarı 23.783.936.41 tondur (Fao, 2023). Besleyici değerinden ötürü meyve eti, tohumları, çiçekleri gıda olarak kullanıldığı gibi dekor objesi olarak da yaygın kullanımı bulunmaktadır. Gerek meyve etinin, gerekse tohumlarının besin değeri yüksek maddeler içerdiği ve sağlığa pozitif etkilerde bulunduğu yönünde çok sayıda araştırma mevcuttur (Kim ve ark., 2012; Sarah ve ark., 2018). Özellikle fenolik maddeler, karotenoidler, C vitamini ve lif gibi sağlığa yararlı maddeleri bol miktarda bulundurmaktadır (Oloyede ve ark., 2012). İçeriğinde fenolik maddeler, tanenler gibi biyoaktif özellikli sekonder metabolitler de bulunmaktadır (Zdunic ve ark., 2016). Anti-inflamatuar, antibakteriyel, antioksidan, antimutajenik, antikanserojenik, immünomodülatör, nöroprotektif, üriner sistem hastalıklarını önleyici ve kan basıncını düşürücü etkiye sahip olduğu bilinmektedir (Babbar ve ark., 2015; Dragovic-Uzelac ve ark., 2005). Bu çalışmada Tiflis/Gürcistan şehrinde yetiştirilen dünyada Butternut balkabağı olarak bilinen *Cucurbita moschata* Duchesne meyvelerinin toplam fenolik madde içeriği, toplam flavanoid madde içeriği, toplam askorbik asit içeriği, üç farklı metotla (ABTS, DPPH, FRAP) antioksidan kapasite miktarı, antibakteriyel ve mutajenik aktivite değerleri belirlenmiştir.

## 2. MATERYAL VE METOT

### Bitki Materyali ve Ekstraksiyon

Çalışmada kullanılan balkabağı örnekleri Gürcistan'ın Tiflis şehrinde yerel bir manavdan 2019 yılı Aralık ayında temin edilmiştir. Örnekler analiz edilinceye kadar +4°C'de saklanmıştır. Her bir taze meyve örneğinden 40 gram tartılmış ve bunlar 200 mL saf su ile homojenizatörde (IKA T 18, Çin) homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenat, çalkalamalı etüvde (SI-300, Lab Companion, South Korea) 72 saat süre ile 190 rpm'de ekstrakte edilmiştir. 72 saat sonrasında homojenat 5000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiş (SL 16R, Thermo Scientific, Germany) ve süpernatant kısmı toplanmıştır. Elde edilen bu ekstrakt döner buharlaştırıcıda konsantre edildikten sonra kullanılabilecek kadar -20°C'de muhafaza edilmiş ve antimikrobiyal ve antimutajenik aktiviteler için kullanılmıştır.

Toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde ve antioksidan aktivite analizleri için metanolik ekstrakt hazırlanmıştır. Bunun için 2 g taze meyve örneği tartılmış ve üzerine 20 mL metanol (%80) eklenerek homojenat hazırlanmıştır. Elde edilen bu karışım çalkalamalı etüvde (SI-300, Lab Companion, South Korea) +4°C'de 24 saat ekstrakte edilmiştir. Daha sonra 5000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiş (SL 16R, Thermo Scientific, Germany) ve süpernatant toplanmıştır. Toplam askorbik asit analizi için aynı ekstraksiyon metodu uygulanmış ancak çözücü olarak oksalik asit kullanılmıştır.

### **Toplam Fenolik Madde, Toplam Flavonoid Madde ve Toplam Askorbik Asit Analizi**

Toplam fenolik madde miktarı Spanos ve Wrolstad (1992)'a göre Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Elde edilen veriler, galik asit standardı kullanılarak mg/100 g cinsinden sunulmuştur. Toplam flavonoid madde miktarı Quettier ve ark. (2000) tarafından önerilen yönteme göre belirlenmiştir. Örneklerin absorbans değeri spektrofotometrik olarak (Unico, S1205) 415 nm'de ölçülmüştür. Elde edilen değerler mg/100 g cinsinden, kuersetin kullanılarak hazırlanmış olan kalibrasyon eğrisinden faydalanılarak sunulmuştur.

Toplam askorbik asit miktarı AOAC (1990)'a göre 520 nm'de spektrofotometrik (Unico, S1205) metodla tespit edilmiştir. Örneklerin toplam askorbik asit miktarı mg/100 g cinsinden kalibrasyon grafiği kullanılarak belirlenmiştir.

### **Antioksidan Kapasite Tayini**

Örneklerin DPPH radikali süpürme aktivitesini belirlemek için Bakhshi ve Arakawa (2006) tarafından önerilen yöntem kullanılmıştır. Absorbans değerleri 515 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmüştür (Unico, S1205). Antioksidan kapasite  $\%DPPH = (A_{kontrol} - A_{örnek}) / A_{kontrol} \times 100$  formülüyle hesaplanmıştır.

ABTS yöntemi Re ve ark. (1999)'a göre yapılmıştır. Örneklerin absorbansı spektrofotometrede 734 nm'de ölçülmüştür (Unico, S1205). Antioksidan kapasite  $\%ABTS = (A_{kontrol} - A_{örnek}) / A_{kontrol} \times 100$  formülüyle hesaplanmıştır.

FRAP yöntemi Benzie ve Strain (1996)'e göre yapılmıştır. Örneklerin absorbansı 593 nm'de ölçülmüştür (Unico, S1205). Standart eğri  $FeSO_4$  çözeltisi kullanılarak hazırlanmıştır (100-1000  $\mu L$ ). Sonuçlar  $\mu mol Fe (II)/g$  cinsinden hesaplanmıştır.

### **Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK)**

Örneklerin antibakteriyel aktivitesi broth mikrodilüsyon metoduna göre belirlenmiştir (Abbasoglu et al., 1995; Uysal, 2011). Test bakterisi olarak *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* ATCC 6633, *Bacillus licheniformis* ATCC 14580, *Escherichia coli* ATCC 8739 ve *Klebsiella pneumoniae* ATCC 33495 kullanılmıştır. Test esnasında kapaklı, steril, 96 kuyucuklu pleyt kullanılmış olup, kuyucuklar içerisine 100  $\mu l$  Muller Hinton Broth eklenmiştir. Daha sonra, ilk kuyucuğa 100  $\mu l$  örnek eklenmiştir. McFarland 0.5'e göre ayarlanmış olan bakteri kültürlerinden ise 100  $\mu l$  ilave edilmiş ve mikropleytler 37 °C'de 18 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında, her bir kuyucuğa 20  $\mu l$  % 0.5 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) solüsyonu eklenmiş ve yeniden 30 dk inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında renk değişimi gözlenmeyen kuyucuklar MİK olarak belirlenmiştir.

### **Maksimum Tolere Edilebilir Konsantrasyonu (MTC)**

Bakteri gelişimi üzerine etki göstermeyen en yüksek ekstrakt konsantrasyonu maksimum tolere edilebilir konsantrasyon (MTC) olarak belirlenmiştir (Erkmen, 2016).

### **Mutajenik Aktivite**

Mutajenite testleri, Maron ve Ames (1983) geliştirdikleri Plak inkorporasyon yöntemi uygulanarak yapılacaktır. Plak inkorporasyon testinde, test bileşiği, bakteriyel test suşu top agara karıştırılarak, minimal glukoz agarlı plaklara dökülecektir. Plaklar 37°C'de 48-72 saat inkübe edilip, bu süre sonunda plaklardaki his+ revertant bakteri kolonileri sayılacaktır. Bu yöntemde, histidin ve biotin eklenmiş 45°C'deki 2 ml'lik top agara, test suşu kültüründen 0.1 ml, test edilecek kimyasaldan 0.1 ml eklenip düşük hızda 3 sn vorteksenerek (karıştırılarak) oda sıcaklığındaki minimal glukoz agarlı plaklara

yayılacaktır. Top ağarın plağın bütün yüzeyine donmadan yayılmasını sağlamak için karıştırma, dökme ve yayma işlemlerinin tümü 20 saniyeden az bir sürede yapılacaktır. Her deneyde, her suşun geri dönme özgülüklerini doğrulamak için pozitif kontrol olarak mutajen kullanılacak ve böylece rutin olarak, mutajenik etki kontrolleri yapılacaktır. Bakteriyi ve kullanılan çözücüyü içeren, fakat test edilen maddeyi içermeyen negatif kontrol plakları, her suş için kendiliğinden geriye dönen bakteri sayısının saptanmasında kullanılacaktır. Test maddesi, pozitif ve negatif kontrol eşliğinde test edilecektir. Her bir seriden aynı anda en az 3 petri plağına ekim yapılacaktır. Her test suşu kendine özgü sayıda revertant koloni oluşturduğundan, test materyallerinin mutajenik etkilerini araştırırken muhakkak negatif kontrol grubunun kullanılması gerekmektedir. Test maddesinin oluşturduğu revertant koloniler ile kontrol revertant koloniler karşılaştırılarak test maddesinin mutajenik etkileri olup olmadığı hakkında karar verilebilecektir.

### İstatistiksel Analizler

Bu çalışmanın sonuçlarını analiz etmek için SPSS (versiyon 20) istatistiksel analiz paketi kullanılmıştır. Çalışmada her analiz 3 tekrarlı olarak yapılmış ve ortalama değerler alınmıştır. Gruplar arasındaki farklılıklar Duncan testi ile  $P < 0.05$  önem düzeyinde belirlenmiştir. Antimutajenite testlerinde üç farklı meyve örneğinden elde edilen ekstraktların etkisiyle geri dönen koloni sayıları saptanmıştır. Kontrol plakları ile meyve örneklerinin farklı konsantrasyonlarının denendiği plakalar arasında istatistiksel fark olup olmadığı tek yönlü varyans analizini (One-Way ANOVA) takiben Dunnett test yöntemine göre değerlendirilmiştir.

### 3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmada kullanılan balkabağı meyve etinde toplam fenolik madde, toplam flavanoid madde ve toplam askorbik asit değerleri Tablo 1.'de verilmiştir. Buna göre örneklerin toplam fenolik madde içeriği 100.08 mg/100g, toplam flavanoid madde içeriği 10.4 mg/100g, toplam askorbik asit içeriği ise 381.5 mg/100g olarak tespit edilmiştir. Enneb ve ark. (2020) Tunus'tan *Cucurbita moschata* Duchesne örneklerinin toplam fenolik madde içeriğinin 222.2 mg/g, toplam flavanoid madde içeriğinin ise 29.65 mg/g kuru ağırlık olduğunu bildirmişlerdir. Yang ve ark. (2022) Avustralya'da yetiştirilen butternut balkabağının meyve etinin toplam fenolik madde içeriğinin 0.33 mg/g, toplam flavanoid madde içeriğinin 0.01 mg/g olduğunu tespit etmişlerdir. Hussain ve ark. (2021) butternut balkabağının toplam fenolik madde içeriğinin 134.59 mg/g, Muhammed ve ark. (2017) ise toplam flavanoid madde içeriğinin 0.65 mg/100g kuru ağırlık olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmaların sonuçları arasındaki bu farklılıklar kabak genotipi, coğrafik lokasyon, iklim, olgunlaşma düzeyi ve depolama şartlarındaki farklılıklara bağlı olarak ortaya çıkabileceği gibi çözücü ve metotsal farklılıklara bağlı olarak ta ortaya çıkabilmektedir.

**Tablo 1.** Balkabağı örneklerinin bazı biyoaktif bileşen ve antioksidan kapasite düzeyleri

	<b>Toplam Fenolik Madde (mg/100g)</b>	<b>Toplam Flavanoid Madde (mg/100g)</b>	<b>Toplam Askorbik Asit (mg/100g)</b>	<b>ABTS (%)</b>	<b>DPPH (%)</b>	<b>FRAP (µg FeII/g)</b>
<b>Balkabağı</b>	100.08±1.8	10.4± 1.8	381.5± 16.4	68.03± 1.2	60.58± 0.2	495.9± 27.7

Reaktif oksijen türevleri biyolojik sistemlerde oksidatif strese neden olarak kanser gibi kronik hastalıklar ortaya çıkarırlar. Bitkisel içeriklerdeki fenolik bileşikler gibi doğal antioksidanlar reaktif oksijen türevlerinin zararlı etkilerini ortadan kaldırarak hastalık oluşumunu engellerler (Mohan ve ark., 2012). Çalışmada balkabağı örneklerinin antioksidan aktivite değerleri Tablo 1.'de verilmiştir. Buna göre ABTS radikali süpürücü aktivite % 68.03, DPPH radikali süpürücü aktivitenin % 60.58 ve FRAP değerinin 495.9 µg FeII/g olduğu belirlenmiştir. Yang ve ark. (2022) Avustralya'da yetiştirilen butternut balkabağının meyve etinin FRAP aktivitesinin 0.03 mg/g, Mashitoo ve ark. (2021) ise 141.88 µmol/100g olduğunu bildirmişlerdir.

Örneklerin antibakteriyel aktivite değerleri Tablo 2.'de verilmiştir. Meyvelerden elde edilen ekstraktın antibakteriyel aktivitesi dört farklı bakteri üzerinde test edilmiş ve bu test bakterileri içerisinde *Escherichia coli* ATCC 8739 ve *Bacillus licheniformis* ATCC 14580'in daha duyarlı olduğu

gözlenirken, *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* ATCC 6633 ve *Klebsiella pneumoniae* ATCC 33495'de nispeten daha düşük bir etki gözlenmiştir.

**Tablo 2.** Balkabağı örneklerinin antibakteriyel aktivitesi

Bakteri	MIC (mg/mL)	MTC (mg/mL)
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i> ATCC 6633	5	2.5
<i>Bacillus licheniformis</i> ATCC 14580	2.5	1.25
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	1.25	0.625
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 33495	5	2.5

Çalışmada kullanılan kabak ekstraktlarının mutajenite denemeleri *S. typhimurium* TA 98 ve TA100 suşu üzerinde araştırılmıştır. (Tablo 3). Kabak ekstraktlarının 4 farklı konsantrasyonu (10, 20, 40, 80 µL/plak) yapılan ön denemeler sonucuna göre kullanılmıştır. Ekstraktların denenen dozlarında TA98 ve TA100 suşlarında mutajen etki bulunmamıştır.

**Tablo 3.** Kabak ekstraktlarının mutajenite değerleri

	TA98	TA100
<b>Kontrol</b>	19 ± 5.69	110 ± 15.8
<b>PK</b>	1950 ± 171	1876 ± 250
<b>10 µL/plak</b>	16.67 ± 2.33	150.67 ± 5.46
<b>20 µL/plak</b>	15.67 ± 3.18	94 ± 4.73
<b>40 µL/plak</b>	18.67 ± 2.85	98 ± 3.00
<b>80 µL/plak</b>	10.33 ± 3.38	113.3 ± 10.9

\*: kontrol ile aradaki fark önemlidir.

#### 4. SONUÇ

Sonuç olarak kabak örneklerinin belirli oranda biyoaktif bileşen içeriklerinin ve % 50'nin üzerinde radikal süpürücü aktivitelerinin bulunması meyvenin sağlığa yararlı bileşikler içerdiğini göstermektedir. Kabak ekstraktları çalışmada kullanılan 4 test bakterisine karşı da antibakteriyel aktivite sergilerken, *Escherichia coli* ATCC 8739 ve *Bacillus licheniformis* ATCC 14580'in daha duyarlı olduğu görülmüştür. Ekstraktların denenen hiçbir dozunda TA98 ve TA100 suşlarında mutajen etki görülmemiştir. Meyvenin antioksidan ve antimikrobiyal ajan olarak değerlendirilebileceği; bunun ilerde yapılacak farklı çalışmalarla da desteklenmesinin faydalı olacağı kanaatine varılmıştır.

#### 5. KAYNAKÇA

Abbasoğlu, U., Tosun F, & Aydınoglu, A. (1995). Antimicrobial Activity of *Gonocytisus angulatus* (L.) Spach. FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences, 20: 125-127.

AOAC (1990). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 15th ed., Arlington VA, 1058-1059.

Babbar, N., Oberoi, H. S., & Sandhu, S. K. (2015). Therapeutic and nutraceutical potential of bioactive compounds extracted from fruit residues. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 55(3): 319-337.

Bakhshi, D., & Arakawa, O. (2006). Effects of UV-b irradiation on phenolic compound accumulation and antioxidant activity in 'Jonathan' apple influenced by bagging, temperature and maturation. Journal of Food Agriculture and Environment, 4(1): 75-79.

Benzie, I. F. F. & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing Ability of plasma (FRAB) as a measure of "Antioxidant power": The FRAB assay. Analytic Biochemistry, 239: 70-76.

Dhiman, K., Gupta, A., Sharma, D., Gill, N., & Goyal, A. (2012). A review on the medicinally important plants of the family Cucurbitaceae. Asian Journal of Clinical Nutrition, 4(1): 16-26.

Dragovic-Uzelac, V., Delonga, K., Levaj, B., Djakovic, S., & Pospisil, J. (2005). Phenolic profiles of raw apricots, pumpkins, and their purees in the evaluation of apricot nectar and jam authenticity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(12): 4836-4842.

Enneb, S., Drine, S., Bagues, M., Triki, T., Boussora, F., Guasmi, F., & Ferchichi, A. (2020). Phytochemical profiles and nutritional composition of squash (*Cucurbita moschata* D.) from Tunisia. *South African Journal of Botany*, 130: 165-171.

Erkmen, O. (2016). *Laboratory Techniques in Microbiology*. Nobel Academic Publishing Education Consultancy, Ankara, Turkey.

FAO Statical Databases. (2023, 17 Ocak). Erişim adres: <http://faostat.fao.org>.

Hussain, A., Kausar, T., Din, A., Murtaza, M. A., Jamil, M. A., & Noreen, S. (2021). Determination of total phenolic, flavonoid, carotenoid, and mineral contents in peel, flesh, and seeds of pumpkin (*Cucurbita maxima*). *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(6):15542.

Kim, M. Y., Kim, Jin, E., Kim, M., Choi, C., & Lee, B. (2012). Comparison of the chemical compositions and nutritive values of various pumpkin (*Cucurbitaceae*) Species and Parts. *Nutr. Res. Pract.*, 6: 21-27.

Maron, D. M., & Ames, B. N. (1983). Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutation Research*, 113: 173-215.

Mashitoo, F. M., Shoko, T., Shai, J. L., Slabbert, R. M., Sultanbawa, Y., & Sivakumar, D. (2021). Influence of different types of drying methods on color properties, phenolic metabolites and bioactivities of pumpkin leaves of var. Butternut squash (*Cucurbita moschata* Duchesne ex poir). *Frontiers in Nutrition*, 8.

Mohan, R., Birari, R., Karmase, A., Jagtap, S., & Bhutani, K. K. (2012). Antioxidant activity of a new phenolic glycoside from *Lagenaria siceraria* Stand. fruits. *Food Chemistry*, 132(1): 244-251.

Muhammad, A., Syed, N., Tauqir, S., Matloob, A., Ameer, Z., & Sohail, S. (2017). Antioxidant, antibacterial and antiproliferative activities of pumpkin (cucurbit) peel and puree extracts-an in vitro study, 30:4.

Oloyede, F., Agbaje, G., Obuotor, E., & Obisesan, I. (2012). Nutritional and antioxidant profiles of pumpkin (*Cucurbita pepo* Linn.) immature and mature fruits as influenced by NPK fertilizer. *Food Chemistry*, 135(2): 460-463.

Quettier-Deleu, C., Gressier, B., Vasseur, J., Dine, T., Brunet, J., Luyck, M., Cazin, M., Cazin, J. C., Bailleul, F. & Trotin, F. (2000). Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *Journal of Ethnopharmacology*, 72: 35-40.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26: 1231-1237.

Sarah, B., Meriem, M., Nabil, B., Kamel, B., & Ali, R. (2017). Anti-inflammatory properties of the carotenoids and polyphenols of pumpkin (*Cucurbita moschata* Duchesne). *South Asian Journal of Experimental Biology*, 7(3): 100-106.

Spanos, G. A., & Wrolstad, R. E. (1992). Phenolic of apple, pear and white grape juices and their changes with processing and storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(9): 1478-1487.



Uysal, N. E. (2011). Determination of Antibacterial Activities of *Taraxacum farinosum* Hausskn. Et Bornm. and *Taraxacum mirabile* Wagenitz Extracts (in Turkish). Master Thesis, Selçuk University, Institute of Sciences, Konya, Turkey.

Yang, Z., Shi, L., Qi, Y., Xie, C., Zhao, W., Barrow, C. J., & Suleria, H. A. (2022). Effect of processing on polyphenols in butternut pumpkin (*Cucurbita moschata*). *Food Bioscience*, 49: 101925.

Zdunić, G., Menković, N., Jadranin, M., Novaković, M., Savikin, K. P., & Živković, J. Č. (2016). Phenolic compounds and carotenoids in pumpkin fruit and related traditional products. *Hemijska industrija*, 70(4): 429-433.

**SÜTÇÜ İNEKLERDE ENFEKSİYÖZ ETKENLERE BAĞLI ABORTUSLAR**  
**INFECTION-RELATED ABORTIONS IN DAIRY COWS**

**Gülşah SARAL<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji AD, Samsun Türkiye

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5584-3991>

**Firdevs BİNLİ<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji AD, Samsun Türkiye

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9547-8776>

**ÖZET**

Sığırlarda gebeliğin 42. gününden doğuma kadar geçen süre içinde fetusun ölmesi ve atılması abortus olarak tanımlanmaktadır. Sütçü ineklerde, özellikle sürü bazında şekillenen abortus sorunu, hayvancılık sektöründe çok ciddi ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Abortus nedeninin araştırılması sürü yönetiminin hayati bir parçasıdır ve doğru tanı hastalığın etkin kontrolüne giden tek yoldur. Sorunun etiolojisinde enfeksiyöz olmayan ve enfeksiyöz nedenler rol oynamaktadır. Bakım-beslenme, çevre koşulları, hatalı hormon/ilaç uygulaması ve hormonal dengesizlik gibi nedenler enfeksiyöz olmayan nedenler arasındadır. Ancak, genellikle sürü bazında abortuslara yol açarak, asıl sorunu oluşturan nedenler enfeksiyöz sınıfta yer alır. Bunların bir kısmının zoonoz karakterde olması, bir kısmının sürüde persiste olarak seyretmesi, bir kısmının abortuslara değil de konjenital malformasyonlara neden olması halk sağlığını ve ekonomiyi tehdit etmektedir. Enfeksiyöz nedenler bakteriyel, viral, paraziter ve fungal başlıklar altında incelenir. Bakteriyel etkenler altında *Brucella abortus*, leptospirozis, *Listeria monocytogenes*, *Chlamydia psittaci*, *Campylobacter fetus* gibi etkenler sıklıkla karşımıza çıkmaktadır. Viral etkenler arasında ise Sığırların Viral Diyaresi/Mukozal Disease, Sığır Herpes Virüs-1 ve -4, Mavi dil (BTV), Akabene, Schmallenberg virüs yer almaktadır. Paraziter etkenler arasında ise, *Neospora caninum* başta olmak üzere *Toxoplasma gondii* ve sarkokistozis bulunur. Fungal etkenler diğerlerinden daha az görülmekle birlikte *Aspergillus* spp. başta olmak üzere sürü bazından ziyade sporadik olarak abortuslara neden olmaktadır. Bu hastalıkların birçoğunda tedavi söz konusu olmamakla birlikte brusellozis gibi olgularda yasal olarak itlaf söz konusudur. Dolayısıyla bu hastalıklarla mücadelede korunma tedbirleri temel teşkil etmektedir. Aşılama programları, hijyen ve karantina kuralları yanında rutin taramaların yapılması korunma ve eradikasyonda kilit noktalardır. Ancak tüm abortus etkenlerine karşı aşı söz konusu değildir. Sunulan makalede ülkemizdeki enfeksiyöz abortus etkenleri ve bu etkenlere karşı mevcut aşılama programlarına ait bilgiler güncellenmesi için hazırlanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Enfeksiyöz abortus, Aşılama programları, İnek

**ABSTRACT**

Abortion is defined as the death of the fetus from the 42<sup>nd</sup> day of pregnancy to the birth and the expulsion of it in cattle. The dairy cow abortion issue, particularly on a herd, results in extremely significant financial losses for the livestock industry. A crucial component of herd management is determining the cause of abortions, and an effective disease control program requires a proper diagnosis. Infectious and non-infectious factors contribute to the genesis of the issue. Non-infectious reasons include care-nutrition, environmental factors, improper hormone or medicine delivery, and hormonal imbalance. But it typically results in abortions on a herd-level, which is the primary issue in the infectious class. Due to the fact that some of them are zoonotic, some are persistent in the herd, and some result in congenital deformities rather than abortions, they pose a threat to both the economic and public health. Bacterial, viral, parasite, and fungal infections are all evaluated as infectious causes. Factors related to bacterial agents include *Brucella abortus*, leptospirosis, *Listeria monocytogenes*, *Chlamydia psittaci*, and

*Campylobacter fetus*. Bovine Viral Diarrhea Virus/Mucosa Disease, Bovine Herpes Viruses-1 and -4, Bluetongue, Akabene, and Schmallenberg Virus are examples of viral agents. Parasitic factors, including *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii*, and sarcocystosis are included in this class, are another infectious cause. Although fungal agents are less common than others, they cause abortions sporadically rather than on a herd basis, especially *Aspergillus* spp. Most of these diseases have no known cures, but some, like brucellosis, are officially eliminated. As a result, the foundation of treatment for many disorders is prevention. Key components of prevention and eradication include routine screening, vaccination programs, hygienic regulations, and quarantine programs. Unfortunately, there is no vaccine that can prevent all causes of abortion. The review that is being provided was prepared to provide updated data on infectious abortion agents and current vaccination programs against these agents in our country.

**Keywords:** Cow, Infectious abortus, Vaccination programs

## 1.GİRİŞ

Ruminant işletmelerinde öncelikli hedef yüksek et ve süt veriminin yanı sıra sağlıklı yavru elde edilmesi ve bu şekilde karlılık oranının artırılmasıdır. Sığırlarda erken embriyonik ölümler, abortlar, fetal mumifikasyon ve anomalili yavru doğumları sonucunda ekonomik kayıplarla karşılaşmaktadır (Doğan ve Dağalp, 2017). Abortus terimi, ineklerde fetal dönemde 42-260. günler arasında gebelik süresini tamamlamadan şekillenen doğumları veya doğum sonrası yavrunun canlılığını 24 saatten az devam ettirdiği doğumları ifade eder. Gebeliğin orta döneminde şekillenen abortuslar 600 ile 1000 dolarlık bir zarara neden olmaktadır. Bu durum üretimini yüksek girdi maliyetleri ve düşük verimlilikle gerçekleştiren ülkeler için hayvan hastalıklarının acil olarak çözülmesinin önemini ortaya koymaktadır (Şentürk, 2015).

İneklerde abortus etkenleri başlıca enfeksiyöz ve enfeksiyöz olmayan şeklinde iki ana başlıkta incelenir. Bu derlemede enfeksiyöz etkenlerden bahsedilecektir. Uterusa kan-plasenta yoluyla veya suni tohumlama/çiftleşme ile geçebilen enfeksiyöz etkenler bakteriyel, viral, paraziter ve fungal olmak üzere dört başlık altında incelenir (Henker vd., 2022). İneklerde abortusa neden olan bakteriyel hastalıklar arasında brusellozis, leprospirozis, listeriyozis, klamidiyozis ve campylobacter enfeksiyonları; Viral etkenler olarak Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) Bovine Herpes Virus-1 ve -4 (BHV-1, -4), Mavi dil (BTV), Akabane ve Schmallenberg Virus enfeksiyonları; Paraziter enfeksiyonlar olarak *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii*, *Sarkokistozis* enfestasyonları ve *Aspergillus* spp. Fungal enfeksiyonlardan bahsedilecektir (Yitagesu vd., 2021)

## 1. ENFEKSİYÖZ ETKENLER

### 1.1. BAKTERİYEL ETKENLER

Bakteriyel etkenler sürü bazında ya da sporadik olarak abortuslara yol açarlar. Ancak sporadik abortusların uygun ortam ve koşulları bulunduğu sürü bazında soruna yol açabileceği unutulmamalıdır. Bu derlemede sunulan etkenler dışında da bakteriyel etkenlerin abortuslara yol açabileceği unutulmaması gereken bir diğer konudur. Zira ateşli enfeksiyonlara, aşırı strese ve immun sistemin bozulmasına neden olan -adi etkenler olarak isimlendirilebilen- bakteriyel enfeksiyonlarda sporadik abortuslara yol açabilir. Abortusa yol açan bakteriyel enfeksiyonlar plasenta da yangı ve nekroz gibi değişikliklere yol açarak başka bir ifade ile plasentisis yaparak etki gösterirler (Morrell vd., 2019).

**Brucellozis:** Genellikle gebeliğin ikinci yarısında çoğunlukla 7. ayda- abortusa yol açar. Zoonoz ve ihbarı zorunlu bir hastalıktır. Sığırlarda sıklıkla abortus yaptıran tür *Brucella abortus* olmakla birlikte ineklerin koyun-keçi ile birlikte tutulduğu işletmelerde *Brucella melitensis*'in de sığırlarda abortusa neden olduğu bildirilmektedir (Büyük ve Şahin, 2011). Korunmada biyogüvenlik tedbirleri ve sürü bağışıklığının sağlanması esastır. Sürü bağışıklığı için, tüm inekler aşılandıktan sonra düve adayı buzağılar 4-6 aylıkken aşılanarak sürü bağışıklığı devam ettirilmelidir (GTHBGKGM, 2012). Bruselloziste ölü aşılar koruma sağlamamakta ve tüm dünyada canlı aşılar tercih edilmektedir. Ancak, kısmen attenüe olan bu aşılar, insanlar ve uygun zamanda yapılmadığında hayvanlar için patojen olabilmektedir. Ülkemizde 2012 yılından beri konjunktival brucella aşıları ile eradikasyon çalışmaları sürdürülmektedir. Sığırlarda konjunktival *B. abortus* S19 aşısı halihazırda kullanılmakta olup 1 yıl arayla

iki defa uygulanmaktadır. Konjunktival aşı için en uygun zaman 5. ve 10. aylardır (Refai, 2002). Aşılamanın ardından gelen en önemli ikinci basamak işletmeye kontrolsüz hayvan/insan girişine izin verilmemesidir (Erganiş, 2015).

**Leptospirozis:** Leptospirosis hastalığı zoonoz olmasına rağmen ülkemizde ihbarı zorunlu değildir. Etken idrar ve kontamine su ile, genellikle ağız yoluyla bulaşır. Sığırlarda en çok *L. hardjo* görülmektedir. Gebeliğin son döneminde daha çok olmak üzere her döneminde abortuslara yol açar. Canlı doğan buzağılar ise zayıf buzağı sendromuna bağlı olarak 72 saat içinde ölür (Grooms, 2006). Bugün dünyada leptospirozis için monovalan, trivalan ve pentavalan olarak aşilar bulunmaktadır. Sığırlarda en çok *L. hardjo* görüldüğü için son yıllarda monovalan *L. hardjo* aşısı tercih edilmektedir. İneklerin ilk aşılama sonrası her 6 ayda bir aşılanması önerilmektedir (Loureiro vd., 2017).

Ülkemizde kontrol edilen bir kamu çiftliğinde kullanılan aşı başarılı bir sürü bağışıklığı oluşturmamıştır (Erganiş, 2015). Leptospirozlu bir işletmede aşılama yapılmak zorunda kalınırsa, enfeksiyondan şüpheli hayvanlara antibiyotik tedavisi yapıldıktan sonra aşılama yapılmalıdır. Aşılama temel amaç idrarla saçılan etkeni azaltmak, abortus riskini düşürmek ve bağışıklık kazandırmaktır. Hastalıktan korunmada fare ve kemirgenlerle mücadele etmek gerekmektedir. Su kaynakları kontrol edilmeli, enfeksiyondan şüpheli hayvan olursa mutlaka karantinaya alınmalı, pozitif olanlar mutlaka sürüden çıkarılmalıdır. Enfeksiyon idrarla atıldığından altlığa dikkat edilmeli, enfekte boğalar tohumlama için kullanılmamalıdır (Ellis, 2015; Otaka vd., 2012).

**Listeriyozis:** *Listeria monocytogenes* tarafından oluşturulur, zoonoz olmasına rağmen ihbarı mecburi değildir. Genellikle sporadik abortuslara yol açar. Abortuslar gebeliğin her döneminde şekillenebilir (Erganiş, 2015). Aborte fetus, uterus içeriği ve plasenta çok sayıda etken içerir. Eğer bu atıklar su ve gıda kaynaklarıyla kontamine olursa diğer hayvanlara hastalığı bulaştırırlar. Etken bozuk silajlarda çok fazla üremektedir. Ayrıca etken balyaların perifer kısmında ve saman yığımında bulunur (Anderson, 2007). Listeriyozis için kullanıma yönelik ticari aşı yoktur (Erganiş, 2015).

**Chlamydophilosis:** Önceden *Chlamydiosis* (*Chlamydia psittaci*) olarak bilinmekteydi. Zoonoz bir hastalıktır, fakat ihbarı mecburi değildir (Erganiş, 2015). Sığırlarda sporadik olarak genellikle gebeliğin 7-9. aylarda abortuslara yol açar ancak 4 aylık dönemde de abortus yapabilmektedir (Wang vd., 2022). Sığırlar için ticari bir aşı yoktur. Koyunlar için olan aşilar kullanılabilir. Etkin bir korunma ve aşılama seçeneği bulunmadığından, hijyen ve genel karantina kurallarına uyulması gerekmektedir. (Yoo, 2010)

**Camplobacteriosis:** Zoonoz bir hastalıktır fakat ihbarı mecburi değildir. *Campylobacter fetus veneralis* tarafından genellikle infertiliteye sebep olmakla birlikte gebeliğin 5-8. aylarında abortuslara da neden olabilmektedir, abortuslar sporadiktir (Erganiş, 2015). Camplobacteriosisten korunmada suni tohumlama önerilmektedir.

## 1.1. VİRAL ETKENLER

**Sığırların viral diyaresi/Mukozal disease (BVD-MD):** Etken *Flaviviridae* familyasında *pestivirus* genusunda yer alır (Van Regenmortel vd., 2000). Gebeliğin ilk 30 gününde fetal trofoblastlar ve maternal epitelyum arasındaki bağlantı yetersiz olduğundan vertikal bulaşma şekillenebilmektedir. Gebeliğin 30-41. günleri arasında kotiledonların gelişmesi ile birlikte intrauterin enfeksiyon oluşmakta ve emriyonik ölümler görülmektedir. Fetal ölümler ise virusun doğrudan maternal plasentaya zarar vermesi ile şekillenir. Gebeliğin ilk trimesterinde fetal immun sistem gelişmediğinden fetus virusa karşı immuntolerans gösterir ve oluşan transplasental enfeksiyon sonucunda fetal ölüm, fetal rezorbsiyon, abortusun yanı sıra özellikle 30. günden sonra ncp biyotip ile enfeksiyon sonucunda fütusta persiste enfeksiyon gelişir ve bu buzağılar sürekli viremik olup yaşam boyu virusu saçarlar (Oguejiofor vd., 2019). Transplasental enfeksiyon 100-150. günler arasında şekillenirse arthrogriposis ve hydranencephali (AH) sendromu gibi anomalilere neden olur (Otter vd., 2009). Aşılama bir seçenek olmakla birlikte, buzağıya etkisi yoktur. Dünyada sığır endüstrisine en yüksek ekonomik kayba neden olan hastalık olduğu için gelişmiş ülkelerde son 10 yılda bütüncül eradikasyon stratejileri yürürlüğe konulmuş ve pek çoğunda hastalık eradike edilmiştir (Oguejiofor vd., 2019).

**Bovine herpesvirus-1 (BHV-1):** Organizmaya giriş yerine göre virus trigeminal veya sakral ganglionlarda latent kalmaktadır (Homan ve Easterday, 1980). Ülkemizde abortus olgularında viral etiolojinin araştırıldığı çalışmalarda BHV-1 enfeksiyonu önemli yer almaktadır (Alkan vd., 2000). Bu

enfeksiyon viremiyi takiben maternal ve fetal bariyeri geçerek ölümcül fetal enfeksiyonlara neden olmaktadır (Ackermann ve Engels, 2006). Abortuslar gebeliğin her döneminde şekillenebilmesine rağmen çoğunlukla gebeliğin 5-8. aylarında, fetal ölümden sonraki 3-5 gün içinde şekillenmektedir (Schlafer ve Miller, 2007). BHV-1 kaynaklı abortuslardan korunmada en önemli faktörler biyogüvenlik ve aşılama programlarına uymaktır. Sahada hem modifiye canlı virüs hem de inaktif virüs içeren çok sayıda BHV-1 aşısı bulunmaktadır. Modifiye canlı aşıların gebe hayvanlarda abortus ve hastalık oluşturma riskleri bulunmaktadır dolayısıyla gebelerde inaktif aşılar daha güvenli bir seçenektir. Etçi sürüde çiftleşmeden önce aşılama yapılmalıdır. Sütçü sürülerde ise aşılama çiftleşmeden önce (4-6 aylık, tekrar 8-12 aylık) veya postpartum dönemlerde yapılmalıdır. (Tuncer Göktuna vd., 2016).

**Bovine Herpesvirus-4 (BHV-4):** *Herpesviridae* familyasında, *Gamma herpesvirinae* subfamilyası içerisinde *rhadinovirus* genusunda yer almaktadır (Roizmann vd., 1992). Virus, bölünen hücrelere affinite gösterdiği için plasental bariyeri geçerek fetusu enfekte edebilmektedir. Placenta hücrelerinde yıkımlanmaya bağlı olarak şekillenen plasental fonksiyon bozukluğu sonucunda abortus şekillenebilmektedir. Abortus gebeliğin herhangi bir döneminde şekillenebilir. Yeni nesil rekombinant aşılar mevcut olmakla birlikte, yaygın uygulama yapılmamaktadır (Fabian vd., 2008).

**Mavi Dil (Blue Tongue Virus BTV):** *Culicoides* cinsi sokucu sinekler ile nakledilen, üreme organlarına yerleşerek abortus ve kongenital anomalilere neden olan önemli bir viral enfeksiyondur (Murphy vd., 1999). Hastalık ihbarı zorunlu hastalıklar listesinde yer almaktadır. (Saltık ve Kale, 2017). Tüm ruminantlar BTV'ye duyarlı olmasına rağmen ciddi klinik belirtiler koyunlarda görülmektedir. Sığırlardaki önemi ise uzun bir viremi dönemi göstermesinden kaynaklanmaktadır (Sperlova ve Zendulkova, 2011). Etken kolaylıkla plasentaya geçer ve fetusta intrauterin enfeksiyonlara yol açar (Menziess vd., 2008). Gebeliğin erken döneminde embriyonik ölüm ve resorpsiyon, ilerleyen dönemlerde abortus, malforme ya da zayıf buzağı doğumu görülür. Gebeliğin 70-130. gününde fetus enfekte olursa ciddi merkezi sinir sistemi (MSS) malformasyonları görülebilir (Waldvogel vd., 1992). Korunmada aşılama yapılabilir, fakat ineklerde aşı sonrası hastalığın oluşma, fetal enfeksiyon şekillenme ihtimali vardır. Vektör mücadelesi enfeksiyonla mücadelede önemli yer tutar (Givens, 2018).

**Akabane virus (AKAV):** *Bunyaviridae* familyasında, *orthobunyavirus* genusunda ve simbusero grup içerisinde yer almaktadır (Yanase vd., 2020). *Culicoides* cinsi sokucu sinekler ile taşınmaktadır. Virus ile enfekte sineklerin gebe sığırları sokmasını takiben dört gün viremi sürer ve virus klinik belirti göstermeden plasentaya geçerek trofoblast hücrelerinde replike olarak fetusu enfekte etmektedir (Uchida vd., 2000). Fetus gebeliğin birinci döneminde enfekte olduğunda çoğunlukla abortus veya doğumdan kısa süre sonra ölüm görülmektedir. Gebeliğin ikinci döneminde veya daha sonra enfekte olan fütuslarda AH sendromu görülür. The Center for Food and Security and Public Health (CFSPH) listesinde 8 adet Akabane aşısı yer almaktadır. Bunlardan iki tanesi Güney Kore ve diğer 6 tanesi Japonyada üretilir canlı inaktif ve ajuvanlı veya ajuvansız olarak hazırlanan bu aşılar TS-C2, OBE-1 (A), K-47 (CD) ve JaNAr28(AV) aşı suşları mevcuttur ancak ülkemizde kullanımı bulunmamaktadır (Okajima vd., 2020).

**Schmallenberg Virus (SBV):** *Culicoides* türü sokucu sineklerle taşınır. Gebe hayvanlarda AH sendromlu doğumlara, mumifiye fetus, abortus, ölü ya da yaşam gücü zayıf yavru doğumlarına neden olmaktadır. Gebe hayvanlarda en çok etkilenen organ placenta, fetusta ise en çok dalak, serebrum, spinalkord olduğu bildirilmiştir (Bilk vd., 2012). Etkin bir korunma ve aşılama seçeneği bulunmamaktadır. İhbarı mecburi değildir.

## 1.2. PARAZİTER ETKENLER

**Neospora caninum:** Abortuslar genellikle 4-6. aylarda şekillenmesine rağmen gebeliğin 3. ayında da görülebilir. Birçok enfekte buzağı klinik olarak sağlıklı görünümde olup hayatları boyunca etkeni taşırlar. Gebelik sırasında ise etken aktifleşerek fütusu enfekte eder. Hastalığın tedavisi yoktur. Hijyen kuralları ile köpek ve çakallarla olan fekal bulaşmanın önlenmesi gerekir. Ticari inaktif aşı vardır (Erganiş, 2015).

## 1.3. FUNGAL ETKENLER

Fungal abortuslar ile genellikle kış aylarında karşılaşılır. Fetus otolize durumdadır, dehidre ve bazen gri renktedir. Mikotik abortuslara yönelik ruhsatlı aşı bulunmamaktadır. Fungal abortus etkeri *Aspergillus*

*sp* %60-80 arasında en çok gözlemlenen etkidir. Bunun yanında *Mucor sp*, *Absidia*, *Rhizopus* etkenler arasında sayılabilir. 4.-9. aylarda aborta neden olabilir. Şiddetli nekrotize plasentitis, kotiledonlar geniş, nekrotik, interkotiledonör alan kalın görünümündedir. Fetusta ise %30 otolize halde ve özellikle baş ve omuzlarda ringworm benzeri deri lezyonları görülmektedir. (Henker vd., 2022)

## 2. ENFEKSİYÖZ ABORTUS ETKENLERİNE KARŞI AŞILAMA

Aşılama hayvanın bağışıklık sistemini etkin hale getirerek, vücutta koruyucu maddelerin üretilmesini sağlar. Aşılama tekniği, aşılama programının başarılı olmasında büyük öneme sahiptir. Temiz ekipman, aşının uygun hazırlanması ve kullanımı gibi çok basit temel kurallara uyulmaması aşılama saha etkinliğini azaltmaktadır. Aşıların kışın donmamasına, yazın soğuk zincir koşullarına uyulmasına dikkat edilmelidir. Özellikle canlı aşılar güneş ışığından korunmalıdır. Açılan ve sulandırılan canlı aşılar 1 saat içinde kullanılmalıdır. Aşılar birbiri ile karıştırılmamalıdır (Givens, 2006). Her enjeksiyonda steril enjektör ile aşılama yeri aseptik hale getirildikten sonra enjeksiyon yapılmalı, boyun bölgesin tercih edilmeli. Reprodüktif aşılama programı planlamada, işletmede olabilen hastalıklara veya bulaşma riski yüksek hastalıklara karşı aşılama öncelik verilmeli. Bu hastalıklara karşı ruhsatlı aşılar araştırılmalı ve canlı aşılar mümkün olduğunca gebelik öncesi dönemde yapılmalıdır. Eğer seçilen aşılar inaktif formda ise ve buzağuların kolostral bağışıklığında rol oynayacaksa hastalığın görülme zamanı dikkate alınarak doğumdan 2 ay öncesinden aşılama takvimine yerleştirilmelidir (Erganiş, 2015). Tablo 1’de bu derlemede bahsi geçen hastalıklara karşı var olan reprodüktif aşıları bahsedilmektedir.

**Tablo 1.** Hastalıklara göre reprodüktif aşılar ve kullanımı (Erganiş, 2015’den uyarlanmıştır)

Hastalık	Ölü /Canlı	Aşılama dönemi
Brusellosis	Canlı	4-6 aylık dana. Tohumlamadan bir ay önce
Leptospirozis	Ölü	2-3 aylık dana iken başlanır. Gebeliğin 4-5. ayında tek doz tekrarlanır
Campylobacteriosis	Ölü	
Listeriosis	Ölü	
Chlamyophilosis	Canlı ve Ölü	Yurt dışında Koyun-Keçi için ruhsatlıdır
BVD	Canlı ve Ölü	3 aydan büyük hayvanlara
Mavidil	serotip-8 Ölü	2-3 aylık dana iken başlanır. Yılda bir kere ilk baharda tekrarlanır
BHV-1	Canlı ve inaktif	Etçi sürüde çiftleşmeden önce aşılama yapılmalıdır. Sütçü sürülerde ise aşılama çiftleşmeden önce (4-6 aylık, tekrar 8-12 aylık) veya postpartum dönemlerde yapılmalıdır
Neosporosis	Ölü	

## 2. SONUÇ

Bu derlemede tüm sığırlarda abortuslara yol açan enfeksiyöz etkenlerin tümünden bahsedilmemiştir, ülkemizde en sık karşılaşılan enfeksiyöz etkenler dikkate alınarak özetlenmiştir.

Anılan bu etkenler sadece abortus yapmamakta aynı zamanda genital sistemde, oofotiris, endometritis gibi infertilite ve steriliteye neden olan hastalıklara yol açarak tedavi giderlerinin ve sürüden çıkarma oranlarının artmasına yol açarak verim ve ekonomik kayıplara yol açmakta ve en önemli noktalardan birtanesi ise zoonoz özelliği olan etkenlerin halk sağlığını tehdit etmesidir. Dolayısıyla korunma önemli bir yer tutmaktadır ve koruyucu hekimlik girişimlerinin tedavi edici girişimlerden daha ekonomik ve etkili bilinen bir gerçektir. Her ne kadar bu derlemede koruyucu olarak aşılamalara bir bölüm açılmış olsa da biyogüvenlik uygulamaları, sürü taramaları, sürüden çıkarma ve -gözden kaçırılan çok önemli bir nokta olarak çalışanların eğitilmesi gibi uygulama ve mekanizmaların birlikte yürütülmesi ile anılan hastalıkların eradikasyonu ya da etkilerinin en aza indirilmesi sağlanabilir.

## KAYNAKLAR

Ackermann, M., &Engels, M. (2006). Pro and contra IBR-eradication. *Veterinary microbiology*, 113(3-4), 293-302.

- Alkan, F., Özkul, A., Bilge-Dagalp, S., Yesilbag, K., Oguzoglu, T., & Akca, Y. (2000). Virological and serological studies on the role of PI-3 [parainfluenza 3] virus, BRSV [bovine respiratory syncytial virus], BVDV [bovine viral diarrhoea virus] and BHV-1 [bovine herpesvirus 1] on respiratory infections of cattle. I. The detection of etiological agents by direct immunofluorescence technique. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 107(5), 193-195.
- Anderson, M. L. (2007). Infectious causes of bovine abortion during mid-to late-gestation. *Theriogenology*, 68(3), 474-486.
- Bilk, S., Schulze, C., Fischer, M., Beer, M., Hlinak, A., & Hoffmann, B. (2012). Organ distribution of Schmallenberg virus RNA in malformed newborns. *Veterinary microbiology*, 159(1-2), 236-238.
- Büyük, F., & Şahin, M. (2011). Kars yöresinde atık yapan ineklerin çeşitli örneklerinden brucella etkenlerinin kültürel, epidemiyolojik ve moleküler yöntemlerle araştırılması.
- Doğan, F., & Dağalp, S. B. (2017). Sığırlarda viral nedenli abort olgularının etiyopatogenezi. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 5(1), 66-77.
- Ellis, W. A. (2015). Animal leptospirosis. *Leptospira and leptospirosis*, 99-137.
- Erganiş, O. (2015). Süt İneği İşletmelerinde Reprodüktif Aşılama. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Obstet Gynecol-Special Topics.*, 2015;1(1):78-85.
- Fabian, K., Makrai, L., Sachse, K., Szeredi, L., & Egyed, L. (2008). An investigation of the aetiological role of bovine herpesvirus 4 in bovine endometritis. *The Veterinary Journal*, 177(2), 289-292.
- Givens, M. (2006). A clinical, evidence-based approach to infectious causes of infertility in beef cattle. *Theriogenology*, 66(3), 648-654.
- Givens, M. (2018). Risks of disease transmission through semen in cattle. *Animal*, 12(s1), s165-s171.
- Grooms, D. L. (2006). Reproductive losses caused by bovine viral diarrhoea virus and leptospirosis. *Theriogenology*, 66(3), 624-628.
- GTHBGKGM. (2012). Brusellanın konjunktival aşı ile kontrol ve eradikasyonu projesi. In: Genelge.
- Henker, L. C., Lorenzetti, M. P., Lopes, B. C., Dos Santos, I. R., Bandinelli, M. B., Bassuino, D. M., Juffo, G. D., Antoniassi, N. A. B., Pescador, C. A., & Sonne, L. (2022). Pathological and etiological characterization of cases of bovine abortion due to sporadic bacterial and mycotic infections. *Brazilian Journal of Microbiology*, 1-12.
- Homan, E., & Easterday, B. (1980). Isolation of bovine herpesvirus-1 from trigeminal ganglia of clinically normal cattle. *American journal of veterinary research*, 41(8), 1212-1213.
- Loureiro, A., Pestana, C., Medeiros, M., & Lilienbaum, W. (2017). High frequency of leptospiral vaginal carriers among slaughtered cows. *Animal reproduction science*, 178, 50-54.
- Menzies, F., McCullough, S., McKeown, I., Forster, J., Jess, S., Batten, C., Murchie, A., Gloster, J., Fallows, J., & Pelgrim, W. (2008). Evidence for transplacental and contact transmission of bluetongue virus in cattle. *Veterinary Record*, 163(7), 203-209.
- Morrell, E. L., Campero, C. M., Cantón, G. J., Odeón, A. C., Moore, D. P., Odriozola, E., Paolicchi, F., & Fiorentino, M. A. (2019). Current trends in bovine abortion in Argentina. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 39, 12-19.
- Murphy, F. A., Gibbs, E. P. J., Horzinek, M. C., & Studdert, M. J. (1999). *Veterinary virology*: Elsevier.
- Oguejiofor, C. F., Thomas, C., Cheng, Z., & Wathes, D. C. (2019). Mechanisms linking bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection with infertility in cattle. *Animal Health Research Reviews*, 20(1), 72-85.
- Okajima, M., Ozawa, M., Kojima, I., Shirafuji, H., Yanase, T., & Masatani, T. (2020). Complete Genome Sequences of Two Akabane Virus Strains Causing Bovine Postnatal Encephalomyelitis in Japan. *Microbiology Resource Announcements*, 9(39), e00807-00820.

- Otake, D., Penna, B., Martins, G., Hamond, C., Lilenbaum, W., & Medeiros, M. A. (2012). Rapid diagnostic of leptospirosis in an aborted bovine fetus by PCR in Rio de Janeiro, Brazil. *Veterinary microbiology*, 162(2-4), 1001-1002.
- Otter, A., et al., Welchman, D. d. B., Sandvik, T., Cranwell, M., Holliman, A., Millar, M., & Scholes, S. (2009). Congenital tremor and hypomyelination associated with bovine viral diarrhoea virus in 23 British cattle herds. *Veterinary Record*, 164(25), 771-778.
- Refai, M. (2002). Incidence and control of brucellosis in the Near East region. *Veterinary microbiology*, 90(1-4), 81-110.
- Roizmann, B., Desrosiers, R., Fleckenstein, B., Lopez, C., Minson, A., & Studdert, M. (1992). The family Herpesviridae: an update. *Archives of virology*, 123, 425-449.
- Saltık, H. S., & Kale, M. (2017). Mavidil Virus Hastalığı. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 5(1), 32-44.
- Schlafer, D., & Miller, R. (2007). Pathology of the gravid uterus, placenta, and fetus. *Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals, Maxie MG, ed, 3*, 474-564.
- Sperlova, A., & Zendulkova, D. (2011). Bluetongue: a review. *Veterinari Medicina*, 56(9), 430.
- Şentürk, B. (2015). Türkiye'de salgın hayvan hastalık sorunu ve yeni model önerileri. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 4(1), 27-29.
- Tuncer Göktuna, P., Alpay, G., Öner, E. B., & Yeşilbağ, K. (2016). The role of herpesviruses (BoHV-1 and BoHV-4) and pestiviruses (BVDV and BDV) in ruminant abortion cases in western Turkey. *Tropical animal health and production*, 48, 1021-1027.
- Uchida, K., Murakami, T., Sueyoshi, M., Tsuda, T., Inai, K., Acorda, J., Yamaguchi, R., & Tateyama, S. (2000). Detection of Akabane viral antigens in spontaneous lymphohistiocytic encephalomyelitis in cattle. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, 12(6), 518-524.
- Van Regenmortel, M. H., Fauquet, C. M., Bishop, D. H., Carstens, E., Estes, M., Lemon, S., Maniloff, J., Mayo, M., McGeoch, D., & Pringle, C. (2000). *Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses. Seventh report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*: Academic Press.
- Waldvogel, A., Anderson, G., Phillips, D., & Osburn, B. (1992). Association of virulent and avirulent strains of bluetongue virus serotype 11 with premature births of late-term bovine fetuses. *Journal of comparative pathology*, 106(4), 333-340.
- Wang, Q., Tian, T., Yao, N.-Q., Chen, Z.-Y., Yang, Y., Sun, Y.-H., Shi, J.-F., Li, J.-M., Shi, K., & Du, R. (2022). A Meta-Analysis of Bovine Chlamydia Prevalence in Cattle in China from 1989 to 2020. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 22(2), 76-92.
- Yanase, T., Murota, K., & Hayama, Y. (2020). Endemic and emerging arboviruses in domestic ruminants in East Asia. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 168.
- Yitagesu, E., Jackson, W., Kebede, N., Smith, W., & Fentie, T. (2021). Prevalence of bovine abortion, calf mortality, and bovine viral diarrhoea virus (BVDV) persistently infected calves among pastoral, peri-urban, and mixed-crop livestock farms in central and Northwest Ethiopia. *BMC veterinary research*, 17, 1-10.
- Yoo, H. S. (2010). Infectious causes of reproductive disorders in cattle. *Journal of Reproduction and Development*, 56(S), S53-S60.



**PİROPTOZİS ve PİROPTOZİS MEKANİZMASI**  
**PYROPTOSIS and THE MECHANISM OF PYROPTOSIS**

*Arzu GEZER<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Atatürk University, Vocational School of Health Services, Erzurum, Turkey.*

<sup>1</sup>*ORCID ID: 0000-0002-1658-2098*

*Ebru Karadağ SARI<sup>2</sup>*

<sup>2</sup>*Kafkas University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Histology and Embryology, Kars, Turkey*

<sup>2</sup>*ORCID ID: 0000-0001-7581-6109*

**ÖZET**

Hücrel inflammatuar nekroz olarak da bilinen piroptoz, programlanmış hücre ölümünün yeni bir şeklidir. İlk olarak 1992'de Gram negatif bakterilerle enfekte olmuş makrofajlarda tanımlanan piroptozis daha sonra çeşitli bağışıklık hücrelerinde de bildirilmiştir. Piroptoz efektörü, gasdermin D'nin kaspaz-1 ve -11 için bir bölünme hedefi olarak 2015'te keşfedilmesi ile "gasdermin (GSDM) aracılı programlanmış ölüm" şekli olarak ifade edilmektedir.

Piroptozun temel bileşenleri olan inflammatuar veziküllerin, gasdermin proteinlerinin ve proinflammatuar sitokinlerin tümörjenez, invazyon ve metastaz ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Piroptoz meydana geldiğinde, güçlü bir inflammatuar yanıt ve bağışıklık sisteminin aktivasyonu ile birlikte çeşitli tehlike ile ilişkili sinyal molekülleri ve sitokinler aktive edilir ve salınır.

Son yıllarda piroptozun, enfeksiyonla mücadelede, hem tümör gelişiminde hem de tümör tedavisinde rol oynaması, kanserlerin klinik önlenmesi ve tedavisine odaklanan terapötik stratejilere yeni bir yön sağlamak için tartışılmaktadır. Bu nedenlerle piroptozla ilişkili genlerin ekspresyon seviyelerini belirlemek, bu genlerin prognostik değerini araştırmak ve piroptoz ile tümör immün mikro ortamı arasındaki korelasyonları incelemek için çalışmalar yapılabilir.

Piroptozisin; tümör, sinir sistemi ve kan hastalıkları gibi birçok hastalığın patofizyolojik süreçleri ile alakalı olduğu belirtilmiştir. Hücrede piroptozis düzenlenerek hastalıkların oluşumuna ve gelişimine nasıl müdahale edilebileceği, etiyolojik araştırma ve tedavinin odak noktası haline gelmiştir. Piroptozisin fonksiyonel değişikliklerinin ve spesifik moleküler mekanizmalarının açıklandığı daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Bu çalışma piroptozis mekanizmasının anlaşılmasını amaçlayarak, araştırmalardaki son ilerlemeler özetlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** gasdermin (GSDM), inflamasyon, nekroz, piroptozis

**ABSTRACT**

Pyroptosis, also known as cellular inflammatory necrosis, is a new form of programmed cell death. First identified in 1992 in macrophages infected with Gram-negative bacteria, pyroptosis has subsequently also been reported in various immune cells. The pyroptosis effector is expressed as a form of "gasdermin (GSDM)-mediated programmed death" with the discovery of gasdermin D as a cleavage target for caspase-1 and -11 in 2015.

It is known that inflammatory vesicles, gasdermin proteins and pro-inflammatory cytokines, which are the basic components of pyroptosis, are associated with tumorigenesis, invasion and metastasis. When pyroptosis occurs, various danger-associated signaling molecules and cytokines are activated and released, accompanied by a strong inflammatory answer and activation of the immune system.

In recent years, the role of pyroptosis in the fight against infection, both in tumor development and in tumor treatment has been discussed to provide a new direction to therapeutic strategies focused on clinical prevention and treatment of cancers. For these reasons, studies can be carried out to Decipher the expression levels of genes associated with pyroptosis, to investigate the prognostic value of these genes, and to study the correlations between pyroptosis and the tumor immune microenvironment.

It has been shown that pyroptosis is associated with the pathophysiological processes of many diseases, such as tumors, nervous system and blood diseases. How to intervene in the formation and development of diseases by regulating pyroptosis in the cell has become an focal point of etiological research and treatment. Further research is needed, in which the specific molecular mechanisms of pyroptosis and its functional changes are explained. This study aims to understand the mechanism of pyroptosis and summarizes the latest advances in research.

**Keywords:** gasdermin (GSDM), inflammation, necrosis, pyroptosis

## 1. GİRİŞ

Piroptotik ölüm; hücresel şişme ve yırtılma, parçalanma ve High-Mobility group-Box (HMGB1), Adenozin Trifosfat (ATP), Deoksiribonükleik Asit (DNA), mitokondriyal DNA (mtDNA), IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-18, IL-33, ekstraselüler soğukla indüklenebilen ribonükleik asit bağlayıcı protein (*Cold-inducible Ribonucleic Acid-binding Protein*; eCIRP) ile (*Apoptosis-Associated Speck Like Protein Containing a Caspase Recruitment Domain*; ASC) noktaları gibi hasarla ilişkili moleküler patern (*Damageassociated Molecular Pattern*; DAMP)'ların salıverilmesi ile sonuçlanmaktadır (1). Piroptozisi indüklemek için enflamatuar kaspazlar (Kaspaz 1, 4, 5, 11) parçalanır ve spesifik sinyal yolu ile hücre tiplerine bağlı olarak farklı moleküler paternler salgılanır. Standart enflamatuar yolda, belirli inflamasyonları aktive etmek için Toll Benzeri Reseptörler, Nod Benzeri Reseptör ve Patern Tanıma Reseptörleri gibi reseptörler DAMP ve belirli Patojene Bağlı Moleküler Patern (PAMP)'leri tanır (2). Patojenden türetilen PAMP'ler ve DAMP'ler, enflamatuar kaspazları aktive eder. PAMP'ler ve DAMP'ler Kaspaz-1'i aktive etmek için bir kaspaz alım bölgesi içeren adaptör protein apoptozu ile ilişkili proteini göreve dahil ederler. Kaspaz-1, piroptozu maruz kalan plazma zarını geçirgen hale getiren Gasdermin-D'yi, N- ve C-terminal bölgelerini ayırmak için böler. Gasdermin-D'nin N terminal alanı zarı hedef alır ve hücrenin plazma zarında büyük, geçirgen gözenek komplekslerini birleştirerek piroptozu uyarır (3, 4).

Piroptoz meydana geldiğinde, güçlü bir enflamatuar yanıt ve bağışıklık sisteminin aktivasyonu ile birlikte çeşitli tehlike ile ilişkili sinyal molekülleri ve sitokinler aktive edilir ve salınır. Birkaç çalışma, piroptozun güçlü proinflamatuar etkisinin, tümör immün mikro ortamının düzenlenmesiyle bağlantılı olduğunu öne sürmüştür (5). Kusurlu GSDM-D ekspresyonuna, CD8<sup>+</sup> T lenfositlerin sayısında ve aktivitesinde önemli bir azalma eşlik ettiği ifade edilerek piroptozun Natural Killer (NK) hücrelerinin antitümör fonksiyonundaki kritik rolünü de doğrulamıştır (6).

Piroptoz, primer tümör büyümesini ve uzak tümör metastazını oldukça etkili bir şekilde inhibe edebilir, kanser immünoterapilerinin etkinliğini artırmak için bağışıklık hücrelerinin sayısını ve bağışıklık faktörlerini artırarak bağışıklık sistemini uyarabilir. Yakın zamanda, bağışıklık hücrelerinin piroptozunun, tümörlerin tedavisi için önemli bir bağışıklık tepkisini destekleyebileceği keşfedilmiştir (7).

Piroptozun, tümör gelişiminde ve tedavisinde ikili bir rol oynadığı ifade edilmektedir. Son birkaç yılda piroptoz, kanserdeki iki ucu keskin kılıç etkisiyle; bir yandan, normal hücreler uyarıldıkça piroptoz sırasında birçok enflamatuar faktör salınır, bu da normal hücrelerin kanser hücrelerine dönüştürüldüğü enflamatuar bir mikro ortamın oluşumuna yol açar. Öte yandan, kanser hücrelerinin piroptozu, kanserin oluşumunu ve gelişimini engellemek için yeni terapötik hedefler olarak kullanılabilir. Piroptozun kanserlerde immünoterapiyi düzenlemede sağladığı ve şüphesiz önümüzdeki yıllarda odak noktası haline gelebilir, daha sonra kanserlerin klinik önlenmesi ve tedavisine odaklanan terapötik stratejilere yeni bir yön sağlamak için tartışmalara konu olabilir.

## 2. PİROPTOZİS MEKANİZMASI

Piroptoz, parankimal hücrelerde ve parankimal olmayan hücrelerde ortaya çıkan yeni bir programlanmış hücre ölümü şeklindedir (8). Piroptoz, hücre zarı yırtılması, su akışı, hücresel şişme, ozmotik parçalanma ve interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleukin-18 (IL-18) ve HMGB1 gibi bazı proinflatuar sitokinler dahil olmak üzere hücre içeriğinin salınmasını içeren ve inflamatuar bir cevaba yol açan hızlı bir süreçtir. Piroptozise ayrıca organel deformasyonu, DNA'nın bölünmesi ve nükleer yoğunlaşmanın eşlik etmesiyle apoptozdan farklı bir ölüm şeklindedir (9). Hem apoptotik hem de pirototik hücreler, terminal deoksinnükleotidil transferaz dUTP nick-end etiketleme (TUNEL) tahlili ve propidyum iyodür boyamasında pozitiflik gösterir (10). Piroptozis ilk olarak, bakterilerin makrofaj ölümüne neden olduğu ve Kaspaz-1'in bu süreçte çok önemli bir rol oynadığı bakteriyel enfeksiyon çalışmalarında keşfedilmiştir (11). İlerleyen zamanda, bakterilerin neden olduğu makrofaj ölüm tipinin apoptozdan ayırt edilebilir olduğu açıklığa kavuşturulmuştur. Daha sonraki çalışmalarla, pirotozisin Kaspaz-1'e bağlı programlanmış hücre ölümünün orijinal tanımından gasdermin ailesi proteinine bağımlı programlanmış hücre ölümüne kademeli olarak gelişmiştir. GSDM ailesi proteinleri başlıca GSDM-A, GSDM-B, GSDM-C, GSDM-D, GSDM-E ve DFNB59'u içerir. DFNB59 dışında, diğer GSDM ailesi proteinleri, pirototik gözenek oluşturan hücre zarı oligomerizasyonu ile ilişkili benzer N-terminal yapılarına sahiptir (12). Son araştırmalar, GSDM-B, GSDM-C, GSDM-D ve GSDM-E'nin pirotozda rol oynadığını kanıtlarken, diğer GSDM ailesi proteinlerinin rollerinin de belirlenmesi gerekmektedir.

Piroptozis için bir takım hipotezler öne sürülmüştür. Bunlar şu şekilde özetlenebilir:

1. Kaspaz-1'e bağlı GSDM-D aracılı pirotoz (kanonik yol olarak da bilinir) (13).
2. Kaspaz-4, 5, 11'e bağımlı GSDM-D aracılı pirotoz (kanonik olmayan yol olarak da bilinir) (14).
3. Kaspaz-3'e bağlı GSDM-E aracılı pirotoz (15).
4. GSDM-B tarafından başlatılan ve granzim A'nın (GZMA) aracılık ettiği pirotoz (16).
5. GSDM-C tarafından başlatılan pirotoz (17).

Kanonik pirototoza, iltihapla aktive olan Kaspaz-1 aracılık eder. Aktive edilmiş Kaspaz-1, belirtilen sitelerde *Caspase Recruitment Domain*; (CARD) alanına ve P20/P10 dimerlerine otomatik olarak bölünebilir. Daha sonra, iki P20/P10 dimeri, bölünme aktivitelerini gerçekleştirerek tetramerler oluşturmak üzere oligomerize olur. P20/P10 tetramerleri, anahtar kilitleme mekanizmasına benzer bir modda GSDM-D'nin ayrılacağı spesifik bölgeyi tanıyarak GSDM-D-C yapısal alanına yüksek afinite ile doğru bir şekilde bağlanır (18). Ayrıca GSDM-D, hücre zarına bağlanabilen ve pirototik gözenek oluşturmak üzere oligomerize olabilen segmentli N-terminal parçasına ayrılır. Ek olarak, P20/P10 tetramerleri, olgun IL-1 $\beta$  ve IL-18'e Nükleer Faktör- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) sinyalinin bir sonucu olarak kopyalanan pro-IL-1 $\beta$  ve pro-IL-18'i parçalayabilir. Ek olarak pirototik gözenek, ozmotik basınç tarafından indüklenmesi nedeniyle hücrenin şişmesine neden olabilir ve IL-1 $\beta$  ve IL-18, GSDM-D gözeneklerinden kaçarak proinflatuar bir yanıtı yol açabilir (13).

Piroptozun kanonik olmayan yolağına Kaspaz-4, 5, 11 aracılık eder, Kaspaz-4 ve 5 insanlarda, Kaspaz-11 farelerde bulunur (14). Lipopolisakkarit tarafından uyarılan Kaspaz-11, GSDM-D'yi Kaspaz-1'in GSDM-D'yi parçaladığı gibi böler (19). Ancak Kaspaz-11, Kaspaz-1'den farklı olarak IL-1 $\beta$  ve IL-18'i parçalayamaz (20). Ayrıca Kaspaz-11, pannexin-1'in bölünmesine sağlayarak ATP'nin salınmasına neden olabilir ve ardından pürinerjik reseptör P2X ligand kapılı iyon kanalının aktivasyonu da pirotozisi indükleyebilir (21). Seçici olmayan gözenek kanalı ayrıca K<sup>+</sup> aracılı enflatuar aktivasyonunu da düzenler.

GSDM protein ailesinin başka bir üyesi olan GSDM-E'nin Kaspaz-3 tarafından bölünebildiği ve salınan N-terminal fragmanın pirototozise yol açacak gözenekler oluşturmak üzere doğrudan zara bağlanabildiği ifade edilmiştir (15). GSDM-E, çok sayıda hücrede eksprese edilirken tümör hücrelerinde de baskılanır. GSDM-E varlığında, tümör hücreleri, tümör nekroz faktörü  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ve sikloheksimid tarafından başlatılan apoptoz durumundan pirototozise geçer ve sikloheksimid'in neden olduğu çeşitli doku hasarı türlerinden ve kilo kaybından korunur. TNF- $\alpha$  'nın sikloheksimid ile etkileşimi Kaspaz-8'i

GSDM-C'yi parçalamak üzere uyarır, bu da GSDM-E'de görülene benzer şekilde apoptotik hücrelerin TNF- $\alpha$  ve sikloheksimid aracılı piroptotik hücrelere dönüşmesine yol açar. (16).

GSDM-D ve GSDM-E'de görülen ile benzer şekilde, GSDMB-N fragmanının oligomerizasyonu da zar üzerinde piroptotik gözenek oluşumuna sebep olabilir. Hem NK hücrelerinin hem de sitotoksik T lenfositlerin OE19, WS837 ve SKCO1 gibi bazı kanser hücre dizilerini GZMA aracılığıyla öldürebildiği ve işlemin interferon  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) ve TNF- $\alpha$  tarafından düzenlendiği belirtilmektedir (17). GSDM-B, çeşitli sağlıklı dokularda, özellikle sindirim sisteminde eksprese edilir; bu, GZMA-GSDM-B piroptotik ekseninin bağırsak immün yanıtında önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

### 3. ÇIKARIM ve SONUÇ

Programlı hücre ölümünden biri olan piroptozisin; tümör, enflamasyon olayı, sinir sistemi ve kan hastalıkları, spinal kord yaralanmaları gibi birçok hastalığın patofizyolojik süreçleri ile alakalı olduğu gösterilmiştir. Hücrede piroptozisin düzenlenerek hastalıkların oluşumuna ve gelişimine nasıl müdahale edilebileceği, etiyolojik araştırma ve tedavinin odak noktası haline gelmiştir. Bu nedenle piroptozisin spesifik moleküler mekanizmalarının ve fonksiyonel değişikliklerinin açıklandığı daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Piroptozla ilişkili genlerin ekspresyon seviyelerini belirlemek, bu genlerin prognostik değerini araştırmak ve piroptoz ile tümör immün mikro ortamı arasındaki korelasyonları incelemek amacıyla yeni çalışmaların yapılabileceği düşünülmektedir.

### 4. KAYNAKLAR

1. Kaur, I., Behl, T., Bungau, S., Kumar, A., Mehta, V., Setia, D., ... & Arora, S. (2020). Exploring the therapeutic promise of targeting HMGB1 in rheumatoid arthritis. *Life Sciences*, 258, 118164.
2. Frank, D., & Vince, J. E. (2019). Pyroptosis versus necroptosis: similarities, differences, and crosstalk. *Cell Death & Differentiation*, 26(1), 99-114.
3. Gu, L., Sun, M., Li, R., Tao, Y., Luo, X., Xu, J., ... & Xie, Z. (2022). Activation of RKIP Binding ASC Attenuates Neuronal Pyroptosis and Brain Injury via Caspase-1/GSDMD Signaling Pathway After Intracerebral Hemorrhage in Mice. *Translational Stroke Research*, 13(6), 1037-1054.
4. Burdette, B. E., Esparza, A. N., Zhu, H., & Wang, S. (2021). Gasdermin D in pyroptosis. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 11(9), 2768-2782.
5. Ramos-Junior, E. S., & Morandini, A. C. (2017). Gasdermin: A new player to the inflammasome game. *biomedical journal*, 40(6), 313-316.
6. Arakelian, T., Oosterhuis, K., Tondini, E., Los, M., Vree, J., van Geldorp, M., ... & van Bergen, J. (2022). Pyroptosis-inducing active caspase-1 as a genetic adjuvant in anti-cancer DNA vaccination. *Vaccine*, 40(13), 2087-2098.
7. Zhao, P., Wang, M., Chen, M., Chen, Z., Peng, X., Zhou, F., ... & Qu, J. (2020). Programming cell pyroptosis with biomimetic nanoparticles for solid tumor immunotherapy. *Biomaterials*, 254, 120142.
8. Kadono, K., Kageyama, S., Nakamura, K., Hirao, H., Ito, T., Kojima, H., ... & Kupiec-Weglinski, J. W. (2022). Myeloid Ikaros-SIRT1 signaling axis regulates hepatic inflammation and pyroptosis in ischemia-stressed mouse and human liver. *Journal of hepatology*, 76(4), 896-909.
9. Schroder, K., & Tschopp, J. (2010). The inflammasomes. *cell*, 140(6), 821-832.
10. Wree, A., Eguchi, A., McGeough, M. D., Pena, C. A., Johnson, C. D., Canbay, A., ... & Feldstein, A. E. (2014). NLRP3 inflammasome activation results in hepatocyte pyroptosis, liver inflammation, and fibrosis in mice. *Hepatology*, 59(3), 898-910.
11. Zychlinsky, A., Prevost, M. C., & Sansonetti, P. J. (1992). *Shigella flexneri* induces apoptosis in infected macrophages. *Nature*, 358(6382), 167-169.
12. Feng, S., Fox, D., & Man, S. M. (2018). Mechanisms of gasdermin family members in inflammasome signaling and cell death. *Journal of molecular biology*, 430(18), 3068-3080.

13. Jorgensen, I., Rayamajhi, M., & Miao, E. A. (2017). Programmed cell death as a defence against infection. *Nature reviews immunology*, *17*(3), 151-164.
14. Kayagaki, N., Stowe, I. B., Lee, B. L., O'Rourke, K., Anderson, K., Warming, S., ... & Dixit, V. M. (2015). Caspase-11 cleaves gasdermin D for non-canonical inflammasome signalling. *Nature*, *526*(7575), 666-671.
15. Wang, Y., Gao, W., Shi, X., Ding, J., Liu, W., He, H., ... & Shao, F. (2017). Chemotherapy drugs induce pyroptosis through caspase-3 cleavage of a gasdermin. *Nature*, *547*(7661), 99-103.
16. Hou, J., Zhao, R., Xia, W., Chang, C. W., You, Y., Hsu, J. M., ... & Hung, M. C. (2020). PD-L1-mediated gasdermin C expression switches apoptosis to pyroptosis in cancer cells and facilitates tumour necrosis. *Nature cell biology*, *22*(10), 1264-1275.
17. Zhou, Z., He, H., Wang, K., Shi, X., Wang, Y., Su, Y., ... & Shao, F. (2020). Granzyme A from cytotoxic lymphocytes cleaves GSDMB to trigger pyroptosis in target cells. *Science*, *368*(6494), eaaz7548.
18. Wang, K., Sun, Q. I., Zhong, X., Zeng, M., Zeng, H., Shi, X., ... & Ding, J. (2020). Structural mechanism for GSDMD targeting by autoprocessed caspases in pyroptosis. *Cell*, *180*(5), 941-955.
19. Wang, K., Sun, Q. I., Zhong, X., Zeng, M., Zeng, H., Shi, X., ... & Ding, J. (2020). Structural mechanism for GSDMD targeting by autoprocessed caspases in pyroptosis. *Cell*, *180*(5), 941-955.
20. Yang, D., He, Y., Muñoz-Planillo, R., Liu, Q., & Núñez, G. (2015). Caspase-11 requires the pannexin-1 channel and the purinergic P2X7 pore to mediate pyroptosis and endotoxic shock. *Immunity*, *43*(5), 923-932.

**KEDİ VE KÖPEKLERDE ATEŞİN SEBEPLERİ VE TANI YÖNTEMLERİ**  
**CAUSES AND DIAGNOSIS OF FEVER IN CAT AND DOGS**

**Ahmet Batuhan ÖNCEL**

*Veteriner Hekim/Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi/Veteriner Fakültesi/İç Hastalıkları Anabilim Dalı/Burdur/Türkiye*

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7847-1609>

**Şima ŞAHİNDURAN**

*Veteriner Hekim/Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi/Veteriner Fakültesi/İç Hastalıkları Anabilim Dalı/Burdur/Türkiye.*

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7718-2020>

**ÖZET**

Ateş vücut ısısının normal değerinin üzerine çıkması olayıdır. Birçok hastalıkla ilişkilidir ve iştahsızlık, halsizlik, güçsüzlük, artan uyku ihtiyacı gibi belirgin hastalık semptomlarıyla birlikte seyrederek. Bu nedenle spesifik bir hastalık göstergesi değildir. Özellikle enfeksiyonlar, aynı zamanda tümörler ve enfeksiyöz olmayan yangılar ateşe sebep olabilir.

Normal tarihsel ve klinik bulgular son derece bilgilendirici olabilir. Hayvanın yaşantısına olduğu kadar yaşadığı çevreye de özel dikkat gösterilmelidir. Geçmiş herhangi bir hastalık, travma, topallık, ilaç uygulaması veya yakın zamanda geçirilmiş operasyonları not etmek gerekir. Antibiyotiklere yanıt, enfeksiyöz bir etiyolojiyi ima eder, ancak birincil enfeksiyon ile başka bir patolojik sürece ikincil enfeksiyon arasında ayırım yapmaz. Ateşin tipi teşhis açısından önemli olabilir ve değerlendirmenin erken safhalarında en az 24 saatlik ve tercihen 72 saatlik bir periyotta ateş kaydedilerek belirlenmelidir.

Tanı prosedürleri ve teşhis yöntemleri ile ateş durumlarında hastada öncelikle ateşin nedeni belirlenmelidir. Bu belirlemelerden sonra mekanizması da göz önünde bulundurulup ateşin sebebi, nedeni ve tedavi yöntemi ile düşürülüp düşürülmemesi değerlendirilmeli ve buna göre bir yol çizilmelidir. Çünkü son çalışmalar, ateşin yararlı ve uyum sağlayıcı etkilerini vurgulamıştır. Deneysel olarak indüklenen sepsisli hayvanlar, ateşli bir tepki geliştirmezlerse daha yüksek bir ölüm oranına sahiptir. Orta dereceli ateş granülosit fonksiyonunu ve hareketliliğini artırır. Endojen pirojenler, ateşle birlikte olduğu zaman mikropların, özellikle bakterilerin ve demirin temel bir element olduğu bazı virüslerin çoğalmasında engelleyebilen plazma demir konsantrasyonunu azaltır. Plazma çinko içeriğinin düşürülmesi, konakçıya benzer avantajlara sahip olabilir. Ateşin, muhtemelen interferon ve interlökin salınımına bağlı olarak bağışıklık fonksiyonunu desteklediği de varsayılmıştır, ancak bu henüz net bir şekilde tanımlanmamıştır. Bu nedenle, ateşin yararlı etkilerinin olumsuz etkilerinden daha ağır bastığı ve orta dereceli ateşin seyrini sürdürmesine izin verilmesi için bir argüman olduğu görülmektedir.

Bu sunumda ateş semptomunun fizyolojik ve klinik bulguları ayrıntılı olarak incelenmiştir. Ek olarak nedeni bilinen ve bilinmeyen ateşte tanı prosedürleri klinisyenlere yardımcı olmak amacıyla derlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** ATEŞ, HASTALIK, SEMPTOM

**ABSTRACT**

Fever is an encounter event above the normal value of body temperature. In most diseases, it is accompanied by obvious disease residues such as exhaustion and lack of eating, weakness, increased sleep. Therefore, it is not a specific disease indicator. In particular, infections, but also tumors and non-infectious conditions cause fever.

Normal history and clinical assessment can be highly informative. Particular attention should be paid to the life of the animal, as well as to the guest in which it lives. Any past illness, trauma, medication administration, or recent operations are must be known. The type of fever can be diagnostically important and should be determined in the early stages of the assessment by recording fever over a period of at least 24 runs and 72 runs.

In cases of fever, the cause of fever should first be determined in patients with the diagnosis range and diagnostic methods. After these determinations, it should be considered among them, the cause of the fever and treatment method, whether it can be reduced or not, and a course should be drawn accordingly. Because the last to research emphasized that fire is beneficial and adaptive. Animals with experimentally induced sepsis have a higher death capacity if they do not develop a fever response. Moderate fever activates granulocytes and their motility. Endogenous pyrogens reduce the likelihood of plasma iron, which when accompanied by fever can inhibit the reproduction of microbes, especially bacteria and some viruses, for which iron is an essential element. Lowering the plasma window content can have to the host advantages. The fever is evaluated as positive or negative.

In this presentation, he organizes the physio-pathological and clinical components of the fever symptom as a configuration. In addition, diagnostic procedures for fever of known and unknown origin have been compiled to assist clinicians.

**Keywords:** Fever, Disease, Cause

## GİRİŞ

Ateş vücut ısısının normal değerini üzerine çıkması olayıdır. Birçok hastalıkla ilişkilidir ve iştahsızlık, halsizlik, güçsüzlük, artan uyku ihtiyacı gibi belirgin hastalık semptomlarıyla birlikte seyreder. Bu nedenle spesifik bir hastalık göstergesi değildir. Özellikle enfeksiyonlar, aynı zamanda tümörler ve enfeksiyöz olmayan yangılar ateşe sebep olabilir. Ateş pirojenlere bağlı olarak vücut merkez ısısı ayar noktasının akut olarak yükselmesinden oluşur. Pirojenler eksojen ve endojen olarak ikiye ayrılır. Eksojen pirojenler virüs ya da bakteri ya da bunların bileşenleridir. Bunlar granülositler ve makrofajlarda endojen pirojenler olarak tanımlanan sitokinlerin salınmasına neden olur. Bu sitokinler kılcal damarlar yoluyla hipotalamusun preoptik alanına ulaşır. Orada endotel ve glia hücrelerinden prostaglandin-E, üretilmesine yol açarlar. Prostaglandin oluşumunu engelledikleri için, asatilsalistik asit ya da indometasin gibi siklooksijenaz inhibitörlerin ateş düşürücü etkilerinin olması, prostaglandin-E nin ateş oluşumunda önemli bir rol oynadığının göstergesidir. Vücut merkez ısısının değişmesi ayar noktasının tekrardan belirlenmesini tetikler. Bu durumda vücut sanki soğuk bir ortama maruz kalmış gibi reaksiyon gösterir. Vücut ısısı yeni yüksek hedefe ulaşana dek titremeler ve vazokonstriksiyon oluşur. Bunu takiben hastalığa göre farklı uzunluktaki plato fazı oluşur. Hipertermiden farklı olarak burada artmış ısı kaybı mekanizmaları gözlenmez. Ateş atağı sona erdiğinde ayar noktası tekrar o anki vücut çekirdek ısısının altında kalır. Bu durumda terlemenin veya solumanın görülmesiyle kendini belli eder.(Wolfgang VE ve ark.2019)

Pek çok klinik durumda bir ateş türünden diğerine ilerleme olabilir. Ateş, süresi ve periyodikliği temelinde üç grupta geniş bir şekilde sınıflandırılabilir: aralıklı, kalıcı ve tekrarlayan.

- Aralıklı veya dalgalı ateş: bir veya daha fazla gün süren ve arada normal sıcaklıktaki dönemler olan zaman zaman yükselen durumdur.
- Uzun süreli veya ısrarcı ateş: karakteristik olarak birkaç gün hatta haftalarca süren ve bireysel ölçümler arasında minimum değişiklik olan.
- Septik veya tekrarlayan ateş: genellikle akut bakteriyel enfeksiyonlardan kaynaklanan ve günlük sıcaklık artışları ile dağınık bir şekilde normal ve hatta normalin altında sıcaklık dönemleri ile karakterize edilen durumdur (Feldman, 1980).

Bunların haricinde ateş iki basit kategoriye de girer. "Gerçek" ateş, ayar noktasının yükseltilmediği diğer pirojenik olmayan hipertermi nedenlerinden ayırt edilenlerdir. Bunlar arasında sıcak çarpması, aşırı efor, malign hipertermi, primer hipotalamik lezyonlar ve hipermetabolik bozukluklar (hipertiroidizm ve

feokromositoma) yer alır. 41 C 'den daha yüksek sıcaklık yükselmeleri genellikle 'gerçek ateşler' değildir. Karaciğer, böbrekler ve merkezi sinir sisteminde geri dönüşü olmayan hasarları önlemek için acil tedavi gerektirirler (Davis,1979).

### **ATEŞİN NEDENLERİ**

#### **Sebebi Bilinen Ateş**

Enfeksiyonlar, immün aracılı bozukluklar ve neoplazi ateş vakalarının çoğunu oluşturur. Feldman (1980) tarafından yakın zamanda yapılan bir araştırma, vakaların yüzde 40'ının enfeksiyona, yüzde 20'sinin bağışıklık aracılı bağ dokusu bozukluklarına, yüzde 20'sinin maligniteye ve yüzde 10'unun ilaç gibi çeşitli nedenlere bağlı olduğunu göstermiştir. Reaksiyonlardan Sadece yüzde 10'u gerçekten nedeni bilinmeyen ateşi ve teşhis edilememiştir. (Jacoby and Swartz, 1973).

#### **Enfeksiyondan kaynaklı ateş**

Aralıklı trombo-embolik bakteri ataklarıyla sonuçlanan bakteriyel endokardit, köpeklerde ateşe neden olan başlıca sistemik enfeksiyondur (Feldman, 1980). Birincil enfeksiyon odağı olmayan bakteriyemiler nadirdir ancak bazı miyeloproliferatif hastalıkların bir özelliği olabilir (Gorman ve Evans, 1986). Bakteriyel endokardit ve miyeloproliferatif hastalıkların klinik belirtileri sıklıkla spesifik değildir ve immün aracılı poliartrit gibi diğer hastalıkları taklit edebilir. Erken pnömotoraks vakaları, genellikle önemli klinik belirtilerin yokluğunda ateş olarak ortaya çıkar. Pyometra olgusunda, piyelonefrit ve prostat apsesi gibi lokalize ürogenital enfeksiyonlar da düşünülmelidir. Nispeten yaygın olmamakla birlikte sistemik mikozlar, kronik zayıflama, osteomyelit, özellikle akciğer olmak üzere birçok iç organda granülomatöz lezyonlar veya oftalmik lezyonlarla ilişkili kalıcı veya aralıklı ateş ile karakterize edilir. Viral enfeksiyonlar genellikle kendi kendini sınırlar, ancak virüsün konakçı üzerindeki immünosupresif ve miyelodisplastik etkileri tekrarlayan bakteriyel enfeksiyonlara zemin hazırladığından, kedi lösemi virüsü (FeLV) enfeksiyonu veya bununla ilgili hastalıklar ateşin önemli nedenleridir. (Leifer ve Matus,1985).

#### **Bağışıklık kaynaklı ateş**

Enfeksiyöz olmayan, eroziv olmayan poliartrit, sistemik lupus eritematozusun bir tezahürü olarak veya tek bir varlık olarak ortaya çıkabilir (idiyopatikformu) (Werner ve Gorman, 1984; Gorman ve Werner, 1986). Eroziv olmayan poliartritin bir formu, ülseratif kolit, enterokolit ve kronik aktif hepatit köpeklerde de tanımlanmıştır. (Pedersen ve ark., 1983). Bu nedenle, immün aracılı poliartrit, poliartrit ile ilişkili daha yaygın immünolojik bozukluklardan biridir. Köpekte ateş Antijen-antikor kompleksleri, bir antijenin salınmasına yol açan komplemanı aktive eder. Güçlü, enflamasyonu indükleyen ajanların sayısı, özellikle C3a ve C5a, son bulur. Bunun sebebi, nötrofillerin ve makrofajların bağışıklık kompleksi birikimi konsantrasyonudur. Bağışıklık komplekslerinin müteakip uzaklaştırılması, fagositik hücreler tarafından endojeonsantrasyonudur pirojenlerin salınmasıyla ilişkilidir (SSchwartz ve Kehoe, (1983).

#### **Neoplazi kaynaklı ateş**

Ateş, altta yatan tümör ortaya çıkmadan çok önce malignitenin bir belirtisi olabilir. (Feldman, 1980). Eksojen bir pirojen tarafından uyarılmadan önce pirojenler bazı tümör hücrelerinde endojen üretir ve serbest bırakır. lenfosarkom ve plazma hücreli miyelom hümoral ve hücresel bağışıklık fonksiyonu ve miyeloproliferatif hastalıklı hayvanlar azalmış fagositik fonksiyona sahiptir. Tüm bu koşulları geçici bakteriyel epizotlara yatkın hale getirir (Madewell, 1985;Leifer ve Matus, 1985; Gorman ve Evans, 1986). Bunun bir parçası olarak meydana gelen nötropeni prelösemik bir sendromun veya kemik iliğinin değiştirilmesinin ardından hemopoeitik veya lenfoproliferatif neoplazmalar, ayrıca sekonder enfeksiyonlar kronik hastalığı olan insan hastalarda tanımlanan aralıklı ateş yükselmeleri miyeloid lösemi köpeklerde de görülür ve anormallikler yaşanabilir.

#### **Çeşitli hastalıklarda ateş**

Ateşin çeşitli nedenleri arasında ilaç reaksiyonları, pulmoner trombo emboli, ülseratif veya granülomatöz kolit, metafizyel osteopati (hipertrofik osteodistrofi) ve panosteit yer alır. Aktif hepatik nekroz ile sonuçlanan aralıklı endotoksemi de ateşe neden olabilir.



### Sebebi Bilinmeyen Ateş

Sebebi bilinmeyen ateş, klinik veterinerlik tıbbında en zorlu sorunlardan birisidir. Sebebi bilinmeyen ateşi tanımlayan kriterler şunlardır: Uyuşukluk, anoreksiya ve kilo kaybı gibi spesifik olmayan hastalık belirtileri ile ilişkili üç haftadan uzun süreli uzun süren ateş, birkaç kez normalin en az 1 kez 3 derece üzerinde sıcaklık durumları ve bir haftalık hastanede yatış ve basit rutin laboratuvar testlerinden sonra kesin olmayan tanılardır (Petersdorf ve Beeson, 1961; Vickery ve Quinnell, 1977; Wolff ve Dinarello, 1979). Bu kriterlerin ortaya çıkması, enfeksiyöz kaynaklı kısa süreli ateşleri, ameliyat sonrası ateşleri ve sıcak çarpması veya aşırı efordan kaynaklanan hipertermi gibi durumları göz ardı etmemizi sağlar. Bu nedenle, sebebi bilinmeyen ateş terimi kesinlikle, ayrı bir sendromu tanımlayacak başka hiçbir klinik belirtisi olmaksızın uzun süreli ateş ile karakterize edilen bir durumdur (Vickery ve Quinnell, 1977). Belirsiz ateşlerin nihayetinde yüzde 90'ının, yaygın hastalıkların erken, ancak çoğu zaman belirsiz durumlardan kaynaklandığı vurgulanmalıdır. Teşhislerin çoğu yeni klinik belirtilerin gelişmesi veya tekrarlanan laboratuvar testlerinin pozitif çıkması nedeniyle yapılır. Sebebi bilinmeyen ateş vakalarının sadece yüzde 10'u teşhis edilmemiştir. Bu nedenle tanısız araştırmaların amacı, sebebi bilinmeyen ateş dışında bir sendromu tanımlamaktır (Feldman, 1980).

### TANI PROSEDÜRLERİ

Temel amaç, sebebi bilinmeyen ateş dışında bir sendromu tanımlamaktır. İlk ortaya çıkan belirtiler genellikle spesifik olmadığından ve yoğunlukta dalgalanma gösterebileceğinden, yeni klinik belirtileri geliştikçe saptamak için tekrarlanan fiziki muayene ve laboratuvar testleri gerekir. Kesin bir teşhisin yokluğunda, klinik belirtileri örtebileceği veya laboratuvar testlerinin sonuçlarını etkileyebilecekleri için antibiyotiklerin, kortikosteroidlerin ve antipiretik analjezik ilaçların gelişigüzel kullanımından kaçınılmalıdır. Mantıksal soruna yönelik bir yaklaşım, anemnez ve klinik muayeneden belirlenen sorunlara dayalı bir başlangıç tanı planının formüle edilmesi gerekir.

#### Kan kültürleri

Pozitif bir kültür şansını en üst düzeye çıkarmak için çeşitli protokoller savunulmuştur. 24 saatlik bir süre boyunca, tercihen ateşli bir olay sırasında veya sıcaklık yükselirken aseptik olarak toplanan dört numune, aerobik ve anaerobik kültür için gönderilmelidir. Bazı durumlarda, pozitif bir sonuç elde edilmeden önce 72 saatlik bir süre boyunca sıralı numuneler gerekir. Örneklemeden en az iki ila yedi gün önce antibiyotikler kesilmelidir. İlaç yok edici enzimler veya antibiyotik giderici reçineler gibi antibiyotik inhibitörleri içeren kültür ortamları artık mevcuttur. Bunlar, tespit oranlarını iyileştirebilir, ancak bunların gerçek yetersizliği henüz belirlenmemiştir. (Rogers, 1985)

#### Kemik iliği aspiratı

Kemik iliği aspirasyonu, ateş açıklanamayan sitopeni, lökositoz, nötrofili veya hipergamaglobulinemi ile ilişkili olduğunda endikedir. Sitolojik inceleme için uygun örnekler iliak kanattan veya kedilerde femurun trokanterik fossasından alınabilir ve prosedür sedasyon ve lokal anestezi altında yapılır. Sitolojik değerlendirme için önemlidir (Meyer, 1983).

\* İnsanlarda hiperfibrinojenemi, iltihaplanma sürecinin spesifik olmayan bir göstergesidir ve küçük hayvanlarda değerli olabilir (Coles, 1986).

#### Sinovyal sıvı aspirasyonu

Eklemler aspiratları, aralıklı veya değişen bacak topallığı, eklem ağrısı veya periartiküler yumuşak doku şişmesi durumu olduğunda endikedir. Sinovyal sıvı, ağır sedasyon altında çoğu köpeğin eklemlerinden aspire edilebilir. (Pedersen, 1978).

#### İmmünohistokimyasal tarama testleri

Otoantikörleri tespit etmek için immünohistokimyasal tarama testleri, halsizlik, tutukluk, topallık, eklem ağrısı, ülseratif deri lezyonları, anemi, trombositopeni veya inatçı proteinüri ile ilişkili açıklanamayan ateş durumlarında endikedir (Gorman ve Werner, 1986).

### Romatoid faktör (RF)

Romatoid faktör genellikle doğal IgG'ye yönelik bir IgM oto-antikordur. Ayrıca IgG ve IgA romatoid faktörleri de tespit edilmiştir. Oluşan bağışıklık kompleksleri, sonunda eklem iltihabı ile sonuçlanan tamamlayıcı sistemi aktive eder (Halliwell, 1982; Medleau ve Miller, 1983). 16 veya daha yüksek bir romatoid faktör titresi genellikle pozitif kabul edilir ve uygun klinik ve radyografik bulguların olduğu bir durumda romatoid artrit tanısı ile tutarlı olacaktır. Romatoid artritli köpeklerin hepsinin romatoid faktör titresine sahip olmadığı ve normal köpeklerde 2 veya 4 titrelerinin kaydedildiği unutulmamalıdır. Romatoid faktör titreleri ayrıca sistemik lupus eritematozus ve bakteriyel endokardit gibi başka hastalıklarda da bildirilmiştir (Bennett, Gilbertson ve Grennan, 1978; Medleau ve Miller, 1983).

### 5.6 Antinükleer antikor (ANA)

ANA, hücre çekirdeğinin ve nükleer zarın bileşenlerine yönelik bir grup oto-antikorunu temsil eder. Spesifik olarak doğal çift sarmallı DNA'ya yönelik antikorlar, insan sistemik lupus eritematozusun ayırt edici özelliğidir, ancak köpek sistemik lupus eritematozusta her zaman mevcut değildir (Shull ve ark., 1983). Normal köpeklerde düşük ANA titreleri rapor edilmiştir, ancak 20'den (veya substrata bağlı olarak I : 80) daha yüksek bir titre genellikle önemli kabul edilir (Halliwell, 1982). Bazı SLE vakalarının hastalık seyri boyunca ANA-negatif kaldığını takdir etmek önemlidir (Kass ve ark., 1985). SLE'de dolaşımdaki veya bazal membranda biriken immün kompleksler tarafından kompleman aktivasyonunun inflamatuvar yanıtı başlattığı düşünülmektedir. Pozitif ANA titreleri bazen LSA, BE ve miyeloid lösemi gibi diğer immünolojik olmayan hastalıklarda bulunur. (Bennett ve ark., 1978; Kass ve ark., 1985).

### Doğrudan Coombs testi

Doğrudan Coombs testi, IgG, IgM ve O3'e yönelik monospesifik antiserumlar kullanarak hastaların eritrositlerine bağlı oto-antikorları veya tamamlayıcı bileşenleri (genellikle C3) saptar. Test, hem sıcak hem de soğuk anti-eritrositi saptamak için 37C ve + 40C'de gerçekleştirilir. Antikorlar. Bazı normal köpek ve kedilerin +40C'de düşük aglütinasyon titresine sahip olduğu gösterilmiştir. Pozitif Coombs testleri ayrıca lenfosarkom, miyeloproliferatif hastalıkların ve bakteriyel endokardit dahil çok sayıda enfeksiyöz, inflamatuvar ve neoplastik bozukluğu olan hayvanlarda belgelenmiştir. Pozitif titreler, bu nedenle, özellikle aşkar hemolizin yokluğunda dikkatli yorumlama gerektirir. (Slappendel, 1979; Halliwell, 1982; Calvert, 1982; Dunn ve ark., 1984).

### Anti-trombosit antikorları

Anti-trombosit antikorlarını tespit etmeye yönelik testler, bir flüoresan etiketli anti-köpek immüoglobülini kullanan bir doğrudan flüoresan antikor testini (FAT) ve Platelet Faktör 3 (PF 3) için bir tahlili içerir. İkinci test özellikle güvenilir değildir ve hem yanlış pozitif hem de negatif sonuçlar verebilir. Trombositlerin immün aracılı yıkımı bazen birincil bir bozukluk olarak bulunur, ancak aynı zamanda sistemik lupus eritematozus, bakteriyel endokardit, lenfosarkom ve bazı miyeloproliferatif hastalıkların (örneğin, kronik granülositik lösemi) özelliklerinden biri olarak kaydedilir (Gorman ve Werner, 1986).

### Serum elektroforezi ve immünoelektroforez

Bu testler, kronik bir inflamatuvar süreçten şüphelenildiğinde veya toplam serum protein tahminleri anormal olduğunda gösterilir. İglobulin fraksiyonundaki poliklonal yükselme en yaygın olarak viral enfeksiyonlar (örn. FIP), kronik bakteriyel enfeksiyonlar, parazitik hastalıklar (örn. leishmaniasis) ve immün aracılı bozukluklar (örn. sistemik lupus eritematozus) ile ilişkilidir. (Quimby ve ark., 1980). Bir monoklonal y-globulin zirvesi, plazma hücreli miyelom ile daha tutarlıdır ancak fonksiyonel B hücreli lenfomalarda da görülebilir. Azalmış y-globulin seviyeleri genellikle diğer serum proteinlerinde eşzamanlı bir azalma ile ortaya çıkar ve lenfoma dahil olmak üzere çok sayıda zayıflatıcı bozuklukla ilişkilidir (Quimby ve ark., 1980).

### Seroloji

Eşleştirilmiş serum örneklerinden ilki, sebebi bilinmeyen ateşli bir hastanın değerlendirilmesinde erken alınmalı ve - 20°C'de saklanmalıdır. 2-3 hafta sonra ikinci bir örnek daha alınır ve çoğu durumda yükselen titre teşhis açısından önemlidir. Şu anda toksoplazmoz, bruselloz, FIP ve çeşitli mikotik

enfeksiyonlar için serolojik testler mevcuttur. Bir hastalık teşhis edilmeden kaldığında ve bir hayvanda oküler lezyonlar görüldüğünde gösterilirler.

Elektrokardiyografi ve ekokardiyografi

Bir köpeğin klinik konjestif kalp yetmezliği (KKY) belirtileri göstermesi veya kardiyak aritmisi olması durumunda elektrokardiyografi endikedir. Aort veya mitral kapakların vejetatif endokarditi zaman zaman KKY'ye ilerler veya prematüre ventriküler kasılmalarla ilişkili tromboembolik miyokardit ile sonuçlanabilir.

Ekokardiyografi artık kalp değerlerinde vejetatif lezyonların varlığını doğrulamak için yararlı bir teşhis aracı olarak kabul edilmektedir (Lombard ve Buerget,1983).

### **Keşif amaçlı laparotomi ve cerrahi biyopsiler**

Keşif amaçlı laparotomi ve/veya cerrahi biyopsiler, yalnızca klinik belirtiler veya laboratuvar verileri spesifik organ veya sistem işlev bozukluğunu gösteriyorsa endikedir.

Terapötik deneme

Terapötik bir deneme, yalnızca ateşin nedeni tespit edilemediğinde savunulur. Kortikosteroidler, uygun antibiyotik örtüsüyle birlikte, çok dikkatli bir şekilde ve yalnızca bir hayvanın tek başına geniş spektrumlu antibiyotiklere veya antipiretik analjezik ilaçlarla semptomatik tedaviye yanıt vermemesi durumunda uygulanmalıdır.

### **SONUÇ**

Belirtilen tanı prosedürleri ve teşhis yöntemleri ile ateş durumlarında hastada öncelikle ateşin nedeni belirlenmelidir. Bu belirlemelerden sonra mekanizması da göz önünde bulundurularak ateşin sebebi, nedeni ve tedavi yöntemi ile düşürülüp düşürülmemesi değerlendirilmeli ve buna göre bir yol çizilmelidir. Çünkü son çalışmalar, ateşin yararlı ve uyum sağlayıcı etkilerini vurgulamıştır. Deneysel olarak indüklenen sepsisli hayvanlar, ateşli bir tepki geliştirmezlerse daha yüksek bir ölüm oranına sahiptir (Hardie ve ark.,1986). Orta dereceli ateş granülosit fonksiyonunu ve hareketliliğini artırır. Endojen pirojenler, ateşle birlikte olduğu zaman mikropların, özellikle bakterilerin ve demirin temel bir element olduğu bazı virüslerin çoğalmasını engelleyebilen plazma demir konsantrasyonunu azaltır. Plazma çinko içeriğinin düşürülmesi, konakçıya benzer avantajlara sahip olabilir. Ateşin, muhtemelen interferon ve interlökin salınımına bağlı olarak bağışıklık fonksiyonunu desteklediği de varsayılmıştır, ancak bu henüz net bir şekilde tanımlanmamıştır. Bu nedenle, ateşin yararlı etkilerinin olumsuz etkilerinden daha ağır bastığı ve orta dereceli ateşin seyrini sürdürmesine izin verilmesi için bir argüman olduğu görülmektedir (Roberts, 1979; Feldman, 1980; Michell, 1982; Hart, 1985; Van Miert, 1985) .

### **KAYNAKLAR**

1. FELDMAN, B.F. (1980) Fever of undetermined origin. *Compendium of Continuing Education* 2, 970-977.
2. Hardie, E. M. (1986). Severe sepsis in selected small animal surgical patients. *J. Anim. Hosp. Assoc.*, 22, 33-41.
3. Roberts Jr, N. J. (1979). Temperature and host defense. *Microbiological reviews*, 43(2), 241-259.
4. PETERSDORF, R. G., & BEESON, P. B. (1961). Fever of unexplained origin: report on 100 cases. *Medicine*, 40(1), 1-30.
5. Vickery, D. M., & Quinnell, R. K. (1977). Fever of unknown origin: An algorithmic approach. *Jama*, 238(20), 2183-2188.
6. Dunn, J. K., & Gorman, N. T. (1987). BSAVA EDUCATION COMMITTEE COMMISSIONED ARTICLE Fever of unknown origin in dogs and cats. *Journal of Small Animal Practice*, 28(3), 167-181.

7. Rogers, T. R. (1985). Investigation of infection in immunocompromised patients. *British Journal of Haematology*, 61(2), 195-201.
8. Dunn, J. K., & Gorman, N. T. (1987). BSAVA EDUCATION COMMITTEE COMMISSIONED ARTICLE Fever of unknown origin in dogs and cats. *Journal of Small Animal Practice*, 28(3), 167-181.
9. Coles, E. H. (1967). Veterinary clinical pathology. *Veterinary clinical pathology*.
10. Dunn, J. K., & Gorman, N. T. (1987). BSAVA EDUCATION COMMITTEE COMMISSIONED ARTICLE Fever of unknown origin in dogs and cats. *Journal of Small Animal Practice*, 28(3), 167-181.
11. Gorman, N. T., & Werner, L. L. (1986). Diagnosis of immune-mediated diseases and interpretation of immunological tests. *Current Vet. Therapy IX, ed. RW Kirk*, 427.
12. Halliwell, R. E. (1982). Autoimmune diseases in domestic animals. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 181(10), 1088-1096.
13. BENNETT, D., GILBERTSON, E. M., & GRENNAN, D. (1978). Bacterial endocarditis with polyarthritis in two dogs associated with circulating autoantibodies. *Journal of Small Animal Practice*, 19(1-12), 185-196.
14. Shull, R. M., Miller, H. A., & Chilina, A. R. (1983). Investigation of the nature and specificity of antinuclear antibody in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 44(11), 2004-2008.
15. Kass, P. H., Farver, T. B., Strombeck, D. R., & Ardans, A. A. (1985). Application of the log-linear and logistic regression models in the prediction of systemic lupus erythematosus in the dog. *American Journal of Veterinary Research*, 46(11), 2340-2345.
16. Slappendel, R. J. (1979). The diagnostic significance of the direct antiglobulin test (DAT) in anemic dogs. *Veterinary immunology and immunopathology*, 1(1), 49-59.
17. Quimby, F. W., Smith, C., Brushwein, M., & Lewis, R. W. (1980). Efficacy of immunoserodiagnostic procedures in the recognition of canine immunologic diseases. *American Journal of Veterinary Research*, 41(10), 1662-1666.
18. Lombard, C. W., & Buergelt, C. D. (1983). Vegetative bacterial endocarditis in dogs; echocardiography diagnosis and clinical signs. *Journal of Small Animal Practice*, 24(6), 325-339.
19. (Wolfgang VE, Gerhard B, Martin D, Gotthold G (2019) *Veteriner Fizyoloji*. 5. Baskı, Ankara: Nobel Tıp Kitapevleri, s:493-508)
20. Jacoby, G. A., & Swartz, M. N. (1973). Fever of undetermined origin. *New England Journal of Medicine*, 289(26), 1407-1410.
21. Schwartz, A., & Kehoe, J. M. (1983). Fundamental principles of immunology. *Textbook of veterinary internal medicine. Diseases of the dog and cat*, 2.

**AMARANT TOHUMUNUN BESİN DEĞERİ VE FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ**  
**NUTRITIONAL VALUE AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF AMARANT SEED**

**Murat ATASEVEN<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği  
Bölümü, Adana, TÜRKİYE.*

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9755-4979>

**Osman KOLA<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>*Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği  
Bölümü, Adana, TÜRKİYE.*

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0000-248X>

**Oktay TOMAR<sup>3</sup>**

<sup>3</sup>*Kocaeli Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Ekonomisi Bölümü, Kocaeli, TÜRKİYE.*

<sup>3</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5761-7157>

**ÖZET**

Dünya çapında hem ılıman hem de tropikal iklimlerde yetişebilen amarantın yaklaşık 50 türü vardır. Bu türler dünyanın birçok ülkesinde tahıl, sebze, süs bitkisi olarak kullanılmaktadır. Yaklaşık 7 bin yıllık bir geçmişe sahip olan amarant tohumları Amerika kıtasından zaman içerisinde Hindistan, Nepal ve Çin'e kadar dağılmıştır ve bu toplumların kültürlerine aşlanarak bir besin kaynağı hatta geleneksel tedavi yöntemlerinde dahi kendine yer edinmiştir. Amarantın yüksek besin profili ve yetişme ikliminin genişliği birçok toplum için mikro besin tedarikçisi olmasını sağlamıştır. Amarant tohumlarının besin değeri özellikleri incelendiğinde birçok tahıla göre daha dengeli ve yüksek düzeyde olduğu görülmüştür. Örneğin Amarantın mineral içeriği (%3.6) kinoa (%2.0) daha yüksektir. Mısır ve pirinçten daha fazla miktarda bakır, manganez, demir, çinko, magnezyum, kalsiyum, fosfor ve potasyum içerdiği tespit edilmiştir. Ayrıca amarant, çölyak hastaları veya glutensiz diyet uygulayan bireyler için iyi bir kalsiyum, manganez ve demir kaynağıdır. Çoğu tahıl ve yalancı tahılda olduğu gibi, amarant nişastası tohumlarda en bol bulunan besindir. Amarantın nişasta içeriği türe göre %48 ile %69 arasında değişmektedir. Amarant lipitleri, diğer tahıl lipitlerinden 2-3 kat daha yüksek olabilir. Amaranttaki yağ asitlerinin yaklaşık %72-84'ü doymamıştır. Amarant tohumlarının yüksek besleyiciliği, proteinlerinin amino asit kompozisyonundan kaynaklanmaktadır ve bu nedenle potansiyel bir fonksiyonel gıda olarak değerlendirilmektedir. Amarant tohumlarının içeriğinde bulunan fitokimyasal bileşikler sayesinde potansiyel olarak antioksidan, antimikrobiyal, antikanser, antidiyabetik ve antihipertansif özellikler gösterebilmektedir. Ayrıca amarant bünyesinde bulundurduğu biyoaktif bileşenler sayesinde oksidatif strese karşı koruyucu özellik göstermektedir. Bu sebeple amarant tohumları fonksiyonel gıda olarak kullanılabilir. Çölyak hastaları, spor yapanlar, vegan beslenenler, vejeteryanlar ve alerjik reaksiyonlara duyarlı bireyler için amarant tohumları tercih edilebilir bir besin kaynağıdır. Bu çalışma da son yıllarda hem yetiştiriciliği hem de tüketimi artan amarant türlerinin tohumlarının besin değeri özellikleri ve fonksiyonel özellikleri ortaya koyulmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** *Amaranthus* spp., Amarant, Fonksiyonel, Besin

**ABSTRACT**

There are about 50 species of amaranth, which can grow in both temperate and tropical climates worldwide. These species are used as cereals, vegetables and ornamental plants in many countries of the world. Amaranth seeds, which have a history of approximately 7 thousand years, have been dispersed from the Americas to India, Nepal and China over time, and have been grafted into the cultures of these

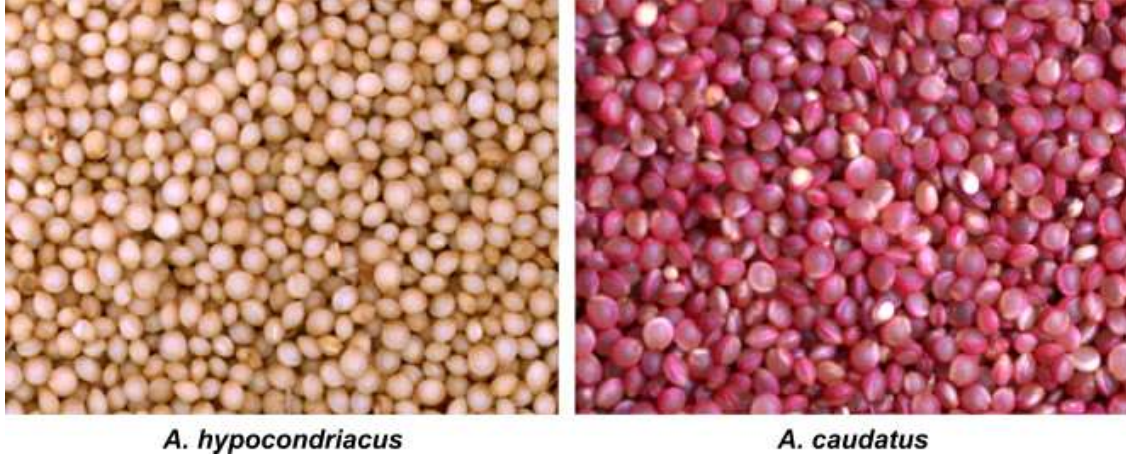
societies and become a source of food, even in traditional treatment methods. Amaranth's high nutrient profile and wide growing climate have made it a micronutrient supplier for many societies. When the nutritional value properties of amaranth seeds were examined, it was seen that they were more balanced and at a higher level than many grains. For example, the mineral content of Amaranth (3.6%) is higher than that of quinoa (2.0%). It has been determined that it contains more copper, manganese, iron, zinc, magnesium, calcium, phosphorus and potassium than corn and rice. In addition, amaranth is a good source of calcium, manganese, and iron for people with celiac disease or those on a gluten-free diet. As with most grains and pseudograins, amaranth starch is the most abundant nutrient in seeds. Starch content of amaranth varies between 48% and 69% depending on the type. Amaranth lipids can be 2-3 times higher than other cereal lipids. About 72-84% of the fatty acids in amaranth are unsaturated. The high nutritiveness of amaranth seeds is due to the amino acid composition of their protein and is therefore considered a potential functional food. Thanks to the phytochemical compounds contained in amaranth seeds, they can potentially show antioxidant, antimicrobial, anticancer, antidiabetic and antihypertensive properties. In addition, amaranth shows a protective feature against oxidative stress thanks to the bioactive components it contains. For this reason, amaranth seeds can be used as functional food. Amaranth seeds are a preferable food source for celiac patients, athletes, vegans, vegetarians and individuals sensitive to allergic reactions. In this study, nutritional value properties and functional properties of seeds of amaranth species, which are grown and consumed more in recent years, were revealed.

**Keywords:** Amaranthus spp., Amaranth, Functional, Nutrition

## 1. GİRİŞ

Amarant, çeşitli yönlerden olağanüstü nitelikleri nedeniyle önümüzdeki yüzyılın “süper gıdalarından” biri olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte, mahsul yeni bir keşif değildir. Beslenme durumu ve günümüz tüketicileri tarafından beslenme sağlayabilen bir gıda olarak kabul edilmesi açısından bugünkü konumuna gelebilmek için bir dizi engelle karşı karşıya kalmıştır. Aksiliklere ve kullanılmamasına rağmen, Amaranthın "süper gıda" statüsünü kazanan üç önemli özelliği bulunmaktadır. Amaranth, birçok hava koşuluna dayanıklıdır. Aynı zamanda yüksek besin içeriği, özellikle proteinler ve lizin amino asit içeriği, amaranthı dünya çapında yetersiz beslenmeyle karşı karşıya olan popülasyonlar için geçerli bir mikro besin tedarikçisi yapmaktadır. Üçüncü en önemli özelliği ise yetişebileceği iklim ve koşullar aralığıdır.

Amarant ekiminin ilk kanıtı Holosen dönemi ortalarına dayanmaktadır (Arreguez *et al.* 2013). Orta Amerika'da, Meksika'da sırasıyla 1500 ve 6000 yıl öncesine dayanan *A. hypochondriacus* ve *A. cruentus* tohumları bulunmuştur (Şekil 1) (Joshi *et al.* 2018). Amerika'nın farklı bölgelerinde yetiştirilen üç ana Amaranth çeşidi, Kuzey Amerika'da, özellikle Güney Meksika ve Guatemala ve çevresinde *A. cruentus*, Amerika'nın batı kesiminde, özellikle güneyden yetiştirilen *A. Hypochondriacus* ve Batı Amerika'dan Orta Meksika'ya ve ayrıca Güney Amerika'ya yakın yerlerde, özellikle And Dağları ve Kuzey Arjantin yakınlarında *A. caudatus* yetiştirilmektedir (National Research Council 1984). Amaranthın tarihi, Kolomb öncesi yeni dünyanın kültürlerine dayanmaktadır. Azteklerin bunu yaygın olarak kullandığına dair bulgular elde edilmiştir. İmparator Montezuma (National Research Council 1984) için Tenochtitlan'a (bugünkü Mexico City) tonlarca Amaranth tahılının haraç olarak gönderildiğine dair buluntular elde edilmiştir. Aztekler ezilmiş tahılı insan kanı veya sütüyle karıştırıp ayinlerinde ve bayramlarında tükettikleri bilinmektedir (National Research Council 1984). Zaman geçtikçe tohumlar Hindistan, Nepal ve Çin'e kadar dağıtılmıştır. Mahsul, bu ülkelerin en önemli kabileleri arasında popülerdir ve Amaranth günümüzde yoğun olarak bu yüksek rakımlı alanlarda yetiştirilmektedir (National Research Council 1984). Ayrıca, amaranth Hint kültüründe de yer almıştır ve “rajgira” ve “ramdana” (sırasıyla kral tohumu ve tanrıdan gönderilen tohum) gibi isimler ile anılmıştır (National Research Council 1984).



Şekil 1. A. Hypochondriacus ve A.Caudatus tohumları

## 2. AMARANT TOHUMUNUN BESİN İÇERİĞİ

### Vitamin ve Mineral İçeriği

Amarantın mineral içeriği (%3,6) kinoa (%2,0) bile daha yüksektir. Tablo 1.'de Amaranntın içerdiği çeşitli mineral maddelerin miktarları verilmiştir. Mısır ve pirinçten daha fazla miktarda bakır, manganez, demir, çinko, magnezyum, kalsiyum, fosfor ve potasyum içerdiği tespit edilmiştir (Nascimento *et al.* 2014). Fosfor-kalsiyum oranı beslenme açısından önemlidir. Kalsiyumun en iyi bilinen rolü kemik ve dişlerin oluşumunda olmakla birlikte, kasılmaları yöneterek kalbin ve kasların düzgün çalışmasını sağlamada da rol oynar. Kalsiyumdan sonra en fazla bulunan mineral olan fosfor ikinci sırada yer almaktadır ve kemik büyümesi, böbrek fonksiyonu, hücre sağlığı ve asit-alkali dengesi için gereklidir. Amaranntaki demir içeriği bazı tahıl tanelerinde bulunanlardan daha yüksektir (Tablo 1.).

**Tablo 1.** Yenilebilir amarannt türlerinin tohumlarındaki mineral ve vitamin içeriği (Velarde-Salcedo *et al.* 2019).

Bileşenler	Amarant			Mısır	Pirinç
	<i>hypochondriacus</i>	<i>cruentus</i>	<i>caudatus</i>		
Mineral (mg/g)					
- Fosfor	600	556	570	291	107
- Potasyum	563	525	532	458	91
- Kalsiyum	244	242	217	-	-
- Magnezyum	342	344	319	118	27
- Sodyum	23	25	22	-	-
- Demir	53	26	21	2,78	0,22
- Bakır	2,4	1,69	0,86	0,16	0,12
- Manganez	3,5	3,4	2,9	0,57	0,83
- Çinko	3,8	4,2	3,4	2,56	0,95
Vitamin (mg/100g)					
- Askorbik Asit	2,9	4,7	5,0		
- Riboflavin (B <sub>2</sub> )	0,08	0,21	0,25		
- Niasin	1,1	1,22	1,0		
- Biotin	42,5	51,3			
- Folik asit	43,8	42,1			
- Tiamin	0,26	0,08	0,2		

Araştırmalar, glutensiz diyetlerde çinko ve magnezyumun eksik olabileceğini ve çinko eksikliğinin protein sentezini etkileyebileceğini ve büyümenin durmasına yol açabileceğini göstermektedir. Magnezyum, çeşitli enzimatik fonksiyonlar için gereklidir ve proteinlerin, nükleik asitlerin, glikozun, yağların hücre zarından geçişi metabolizmasında anahtar bir rol oynar (Caruso *et al.* 2013). Amarannt,

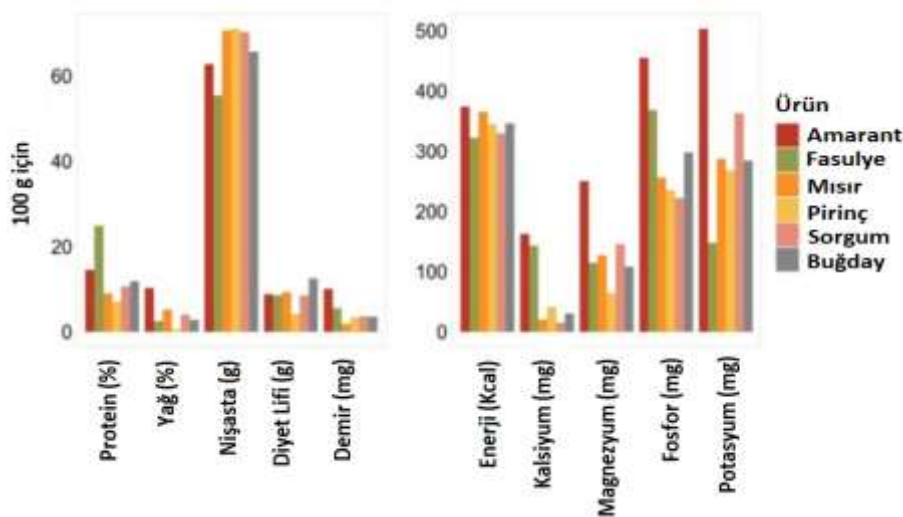
çölyak hastalığı olan veya glutensiz bir diyet uygulayanlar için iyi bir Ca, Mn ve Fe kaynağıdır (McGough ve Cummings 2005).

Amarant tohumlarındaki vitaminler arasında askorbik asit, riboflavin, niasin ve tiamin bulunur (Tablo 1.) (Teutónico ve Knorr 1985, Bressani 1994).  $\alpha$ -tokoferol gibi E vitamini, özellikle tohumlarda lipit oksidasyonunu önleyen güçlü bir antioksidandır. Amarantta toplam tokoferol indeksi 7,28 ile 27,9  $\mu\text{g/g}$  arasında değişmektedir. Genel E vitamini aktivitesi, amarant tohumları için ortalama 5,45  $\mu\text{g/g}$  ve kinoa için 17,5  $\mu\text{g/g}$  düzeyindedir (Tang *et al.* 2016).

### Diyet Lifi

Kompleks karbonhidratların oluşturduğu diyet lifi, bağırsakta sindirilemez veya emilemez, ancak beslenmede önemli bir role sahiptir, bağırsak hareketliliğini iyileştirir (Ötles ve Ozgoz 2014).

Prebiyotik olarak çalışır ve gastrointestinal, immünolojik, kardiyovasküler ve hatta kanser önleyici etkileri vardır (Ötles ve Ozgoz 2014). Amaran tohumları, buğdayın içeriğiyle karşılaştırılabilir ancak mısırdan daha yüksek değerler olan yaklaşık %8-20 diyet lifi içerir (Şekil 2) (Lamonthe *et al.* 2015). Genel olarak, amarant diyet lifi, lif fraksiyonuna bağlı olarak miktarları ve yapıları değişen ksiloglukanlar ve pektik polisakaritlerden oluşur. Toplam lifin %78'ine tekabül eden çözünmeyen lif, galakturonik asit, arabinoz, galaktoz, ksiloz ve glikozdan oluşur. Çözünür lif (%22) glikoz, galakturonik asit, arabinoz ve esas olarak ksiloglukanlar ve arabinozdan zengin polisakaritlerden oluşur. Amaran lifinin bileşimi tahıllardan farklıdır. Bu bileşim meyvelere, sebzelere ve baklagil tohumlarına daha çok benzemektedir, bu nedenle kolonik fonksiyonun iyileştirilmesi için iyi bir potansiyel olduğunu düşünülmektedir (Lamonthe *et al.* 2015).



Şekil 2. Amaran ve bazı tahılların besin değeri kıyaslaması (Rastogi ve Shukla 2013).

### Karbonhidrat İçeriği

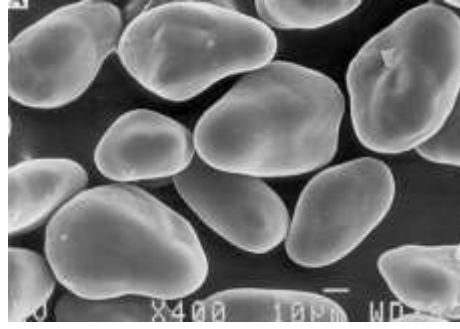
Çoğu tahıl ve yalancı tahılda olduğu gibi, amarant nişastası tohumlarda en bol bulunan besindir. Nişasta doğrudan bir enerji kaynağıdır ve kaynağına bağlı olarak tohumunun reolojik özelliklerini etkiler. Amaranın nişasta içeriği türlere göre %48 ile %69 arasında değişmektedir. Nişasta, *A. hypochondriacus*'ta son derece küçük granül boyutu (1-3  $\mu\text{m}$ ) ve yüksek tekdüzelik (açısal ve çokgen) barındırırken, *A. cruentus*'ta ise küresel, açısal ve çokgen şekildedir (Stone ve Lorenz 1984). Amaran tohumları, amarant nişasta granüllerindeki amiloz/amilopektin içeriğine göre mumsu olmayan ve mumsu olarak sınıflandırılır. Mumsu olmayan tohumlar, amiloz içeriğinin %7 ile %14 arasında değiştiği yerlerde yapışkan değildir. Amaran çeşidine bağlı olarak, fizikokimyasal özellikler çok çeşitlidir, ancak amarant nişastası, yağ değişimi, yeni özelliklere sahip biyomalzemelerin üretimi ve taşıyıcı ve kapsülleme malzemeleri gibi bazı gıda ve gıda dışı uygulamalar için benzersizdir. Amaran nişastası, buğday ve mısırdan daha düşük viskoziteye, yüksek çözünürlüğe, düşük jelatinleşme sıcaklığına ve daha yüksek şişme kapasitesine sahiptir (Şekil 3) (Resio ve Suarez 2001, Capriles *et al.* 2008). Donma-çözülme döngülerinin mevcut olduğu nem yönetimi için, yeni biyomateryaller, özel atıştırma için



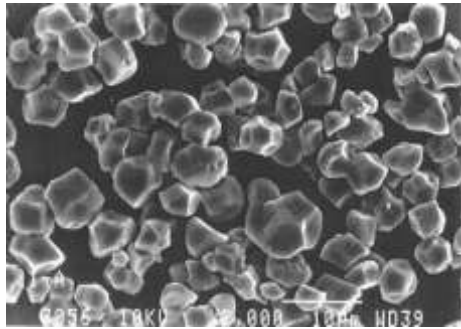
bileşenler ve yeni emülsifikasyon sistemleri ve kozmetik üretimindeki taşıyıcılar için uygun bir ajan olabilir (Zhu 2017).



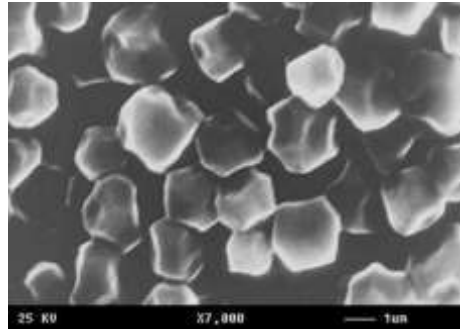
Buğday Nişastası (x1000)



Patates Nişastası (x400)



Pirinç Nişastası (x2000)



Amarant Nişastası (x7000)

**Şekil 3.** Farklı nişastaların taramalı elektron mikrografları (Singh ve Singh 2011).

Nişasta sindirilebilirliği amarant kaynağına bağlıdır. Amarant nişastasının granül boyutu ve düşük amiloz içeriği nedeniyle yüksek sindirilebilirliğe sahip olduğu bildirilmiştir (Capriles *et al.* 2008). Ayrıca, amarantın hazırlanma yolları da dikkate alınmalıdır; genellikle haşlama, kavurma, pişirme, pul pul dökme veya ekstrüzyon gibi ısıl bir işlemi içerir, tüm işlemler nişasta sindirilebilirliğini etkilemektedir (Capriles *et al.* 2008). Nişasta sindirilebilirliklerinin yüksek olması nedeniyle, şeker hastalarının amarant tohumlarının tüketimi önerilmemektedir (Chaturvedi *et al.* 1997).

Serbest şekerlerle ilgili olarak, amarant tohumlarının etanolik ekstraktının analizi, sakarozun (%0,41-0,87) başlıca ana şeker olduğunu, bunu glikoz (%0,0-0,67), rafinoz (%0,13-0,32) ve fruktozun (%0-0,45) (Lorenz ve Gross 1984, Acanski ve Vujic 2014) takip ettiği ayrıca amarant tohumlarında staçioz (%0,012-0,15) ve maltoz (%0,0-0,36) bulunduğu tespit edilmiştir (Saunders ve Becker 1984, Acanski ve Vujic 2014).

### **Yağ, Tokoferol ve Fitosterol İçeriği**

Amarant lipitleri, diğer tahıl lipitlerinden 2-3 kat daha yüksek olabilir. Amaranttaki lipitlerin çoğu testambriyoda (tohum ağırlığının %25'i) bulunur ve serbest lipitler toplamın %90-93'ünü oluşturur. Trigliseritler, serbest lipitlerin başlıca polar olmayan bileşenidir. Bağlı lipit fraksiyonu, fosfolipitler (%85) ve glikolipitler (%2,6) olarak tanımlanmıştır. Amaranttaki yağ asitlerinin yaklaşık %72-84'ü doymamıştır (Tablo 2.); mısır ve soya fasulyesinde bu moleküller sırasıyla %86,1 ve %84,6'ya ulaşmaktadır (Saunders ve Becker 1984, Singhal ve Kulkarni 1988).

Linoleik asit (C18:2), oleik asit (C18:1) ve palmitik asit (C16:0), amarant tohumlarında en bol bulunan yağ asitleridir ve toplamın sırasıyla %50, %23,8 ve %20'sine karşılık gelmektedir (Saunders ve Becker 1984, He ve Corke 2003). Doymamış yağ asitlerinin yüksek olmasına rağmen, amarant tohumları, yüksek tokoferol içeriği nedeniyle oksidasyona karşı çok karardır. Bu, gıda endüstrisi tarafından kullanılabilir bir avantaj sağlar. Amarant yağı aynı zamanda iyi bir tokoferol  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  ve  $\delta$  (sırasıyla 13,3, 26,8, 5,7 ve 19,5 mg/100 g) ve  $\beta$ -sitosterol (497,7 mg/100 g), kampesterol (20,7 mg/100 g),

stigmasterol (306,6 mg/100 g) ve brassikasterol (21,0 mg/100 g) gibi fitosteroller için iyi bir kaynaktır (Marccone *et al.* 2003, Pina-Rodriguez ve Akoh 2009).

**Tablo 2.** Amaranat tohumu yağının ham yağ ve yağ asidi içeriği (Velarde-Salcedo *et al.* 2019).

Örnek	Yağ Asitleri (%)						
	Doymuş			Doymamış			
	C16:0	C18:0	Toplam	C18:1	C18:2	C18:3	Toplam
<i>A. hypochondriacus</i>	18,1	4,6	23,0	26,7	49,4	0,9	77,0
<i>A. cruentus</i>	20,3	3,8	27,9	19,4	51,4	1,3	72,1
<i>A. caudatus</i>	19,4	3,8	23,2	25,3	50,9	0,6	76,8
Mısır	11,5	2,2	13,9	26,6	58,7	0,8	86,1
Soya Fasulyesi	11,3	4,1	15,4	26,7	51,4	6,5	84,6

Fitosteroller, yapısal olarak kolesterole benzeyen organik moleküllerdir ancak bağırsakta emilemezler; bu nedenle kolesterol emilimini bloke ederler ve LDL-kolesterolü düşürürler (Alvarez-Jubete *et al.* 2010). Tokoferoller, en yüksek aktiviteye sahip a-tokoferol ile E vitamini bileşikleri olarak biyolojik aktiviteye sahiptir. Tokotrienollerin, kolesterol biyosentezinde hız sınırlayıcı enzim olan  $\beta$ -hidroksi- $\beta$ -metilglutaril-koenzim A redüktazı inhibe ettiği ve insanlarda serum kolesterolünü düşürdüğü rapor edilmiştir ve LDL-kolesterol molekülünün E vitamini geri dönüşümünde rol oynar. Amaranat yağının sabunlaşmayanları, esas olarak yağın yaklaşık %6'sında meydana gelen skualenden oluşur. Bu, diğer tahıl taneleri (%0,03) ve ayçiçeği (%0,01) ile karşılaştırıldığında oldukça yüksek bir miktardır. Kolesterolün bir öncüsü olarak skualen, kolesterol biyosentezinin geri besleme inhibisyonunu da sergileyebilir (He ve Corke 2003). Skualen, kolesterolün doğrudan öncüsüdür ve farklı hipokolesterolemik özelliklere sahiptir. Amaranat yağı, yeni bir yağ asidi eklenerek veya orijinal yağ asidinin pozisyonlarını değiştirmek için yeniden yapılandırılarak doğal sıvı ve katı yağlardan modifiye edilen yapılandırılmış lipitler, yeni triaçilgliseroller gibi keşfedilmemiş uygulamalar için ilginç bir hammaddeyi temsil eder. Amaranat yağındaki palmitik asit içeriğini sn-2 pozisyonunda artırarak ve dokosaheksaenoik asit (DHA) ekleyerek, anne sütündekine daha benzer bir lipit bileşeni sağlamak için süt bazlı bebek formüllerinde kısmen veya tamamlayıcı olarak kullanılabilir (Pina-Rodriguez ve Akoh 2009).

### Protein İçeriği

Amarant tohumlarının yüksek besleyici değeri, proteinlerinin amino asit bileşiminden kaynaklanmaktadır. Bu nedenle, bazı insanlar amarantın yüksek kaliteli proteinleri nedeniyle potansiyel bir fonksiyonel gıda olduğunu düşünürler. Amaranat, FAO/WHO beslenme gereksinimleri tarafından önerilen amino asit tüketimini pirinçten daha iyi karşılamaktadır (Huerta-Ocampo ve Barba de la Rosa 2011). Tablo 3.'de FAO/WHO parametrelerinin yanı sıra üç yenilebilir amarant için ortalama esansiyel amino asitleri göstermektedir (Millward 2012). Amaranat proteinleri, tahıllarda sınırlayıcı bir amino asit olan lizin (4,6-6,1 g/100 g protein) bakımından zengindir. Triptofan (Trp), anaerobik koşullarda alkalın hidrolizi gerektirdiğinden, normalde triptofan rapor edilmez (Mota *et al.* 2016) ancak birkaç araştırma, amaranttaki Trp değerinin 0,8 ile 1,8 g/100 g protein arasında olduğunu göstermiştir (Betschart *et al.* 1981, Dodok *et al.* 1997, Morales-Guerrero *et al.* 2009). Ek olarak, amarant, esansiyel bir amino asit olarak kabul edilmesede, çocuk gelişiminde önemli bir rolü olan histidin içermektedir (Young 1998). Proteinlerin besin değeri veya kalitesi, amino asit bileşimine, esansiyel amino asit oranına, sindirim sırasında hidrolize yakınlığa ve işlemenin etkilerine bağlı olarak değişmektedir (Friedman 1996).

Amarant proteinlerinin amino asit niteliği mısır, buğday ve soya fasulyesi değerlerinden daha yüksektir (Tablo 3.). Ham amarant tohumlarının sindirilebilirliği %77,6 ile %88,5 arasında değişmektedir, ancak kızarmış tohumlar, mısır ve buğdayın sindirilebilirliğine benzer şekilde %90 sindirilebilirliğe ulaşmaktadır (Garcia *et al.* 1987, Pedersen *et al.* 1987). Ham ve işlenmiş amarant için bildirilen gerçek sindirilebilirlik (TD) değerleri sırasıyla %87,5 ve %89,6, kazein TD değeri ise %97,6'dır. Ham *A. hypochondriacus* ve patlamış *A. Caudatus* (Şekil 4) için biyolojik değerler (BV) sırasıyla %73 ve %86'dır. Bu değerler, esansiyel amino asitlerin mevcudiyetinin yüksek olduğunu gösterir. Protein verimlilik oranı (PER) testi, gıda kalitesi protein değerlendirmesi için en önemli endekslerden biri olarak kabul edilir, kazein değeri 1,76, PER değeri, ekstrüzyon koşullarına bağlı olarak 2,5 ile 3,3 arasında değişen ekstrüde amarant değerlerine sahiptir. Üç tane amarant türü için PER değerleri Tablo 4.'de

gösterilmektedir. Amaranat için net protein retansiyonu (NPR), mısır, buğday ve soya fasulyesinden daha yüksektir (Morales-Guerrero *et al.* 2009). Ekstrüde amaranat, en yüksek NPR'ye sahip ürün olarak kabul edilebilir. Analizler, ham amaranat ununda mevcut lizin (g/16 g N) değerlerinin 5,6 olduğunu ve ekstrüzyon işlemlerinin bunu 5,79'a çıkardığını, ancak haşhaş işlemlerinin 4,57 g/16 g N'ye bir düşüşe neden olduğunu göstermiştir; ekstrüzyon işlemleri mevcut lizin değerlerini etkilemediği bildirilmiştir (Nascimento *et al.* 2014). Protein kalitesi, patlatılmış numunede en yüksek değere sahipken pullanmış, kavrulmuş ve ham numuneler sırasıyla takip etmektedir (Nascimento *et al.* 2014).



Şekil 4. Patlatılmış Amaranat tohumu

#### Amarant Tohumlarında Bulunan Fitokimyasal Bileşikler

Diğerlerinin yanı sıra fenolikler, karotenoidler ve flavonoidler gibi doğal biyoaktif bileşiklerin, mükemmel antioksidan özellikler de dahil olmak üzere birçok sağlık yararı sergilediğine araştırmalarda yer verilmiştir. Fenolik bileşikler bitki sekonder metabolitleridir ve meyvelerde, sebzelerde ve tam tahıllarda 6000'den fazla sayıda bulunur ve sağlık yararları nedeniyle en çok araştırılan flavonoidlerdir (Babu *et al.* 2013). Flavonoidler potansiyel antioksidan, antimikrobiyal, antikanser, antidiyabetik ve antihipertansif özellikler sergiler (Halvorsen *et al.* 2002).

**Tablo 3.** Yenilebilir amaranat çeşitlerine ait tohumların amino asit profili (g/100 g protein) (Velarde-Salcedo *et al.* 2019).

Aminoasit	Amarant türleri			FAO/WHO	
	<i>hypochondriacus</i>	<i>cruentus</i>	<i>caudatus</i>	Yetişkin	Çocuk
Histidin	5.1	5.4	1.6		
Sistein	3.0	2.9	2.3		
İzolösin	3.3	5.2	3.8	3.0	3.2
Lösin	5.4	5.3	6.1	5.9	6.3
Lizin	4.6	5.3	6.1	1.6	5.2
Metiyonin	1.4	1.7	2.9		
Fenilalanin	4.1	3.8	3.7		
Treonin	3.4	5.3	3.8	0.9	2.7
Triptofan	1.8	0.81	1.1	0.5	7.0
Tirozin	3.5	3.2	2.8		
Valin	3.7	4.1	4.4	1.3	4.1
Metiyonin+Sistein (Sulfur amino asitler)	4.1	4.6	4.7	2.2	2.5
Fenilalanin+Triptofan (Aromatik amino asitler)	7.7	7.1	6.2	3.8	4.6
Amino asit kalifikasyonu	86	87.9	70		

Amarant tohumları, miktarı belirlenmiş üç polifenol, rutin, izokersitrin ve nikotiflorin içerir. Amarant tohumlarında rutin daha yüksek konsantrasyonlarda (10,1 µg/g un) mevcuttur, nikotiflorin ise 7,2 µg/g ile unda mevcuttur (Barba de la Rosa *et al.* 2009). Rutin ve metabolitleri, çok sayıda patolojiyle ilişkili olan ileri glikasyon son ürün (AGE) oluşumunu modüle edebilir. Nikotiflorin'in hafıza fonksiyon bozukluğunu azaltmada koruyucu etkileri olduğu iddia edilmiştir (Huang *et al.* 2007). Quercetrinin ise in vivo oksidatif hasara karşı koruduğu bildirilmiştir (Meyers *et al.* 2008). Amarantın yenilebilir tohumlarında -p-hidroksibenzoik asit (1,2-2,2 µg/g un), siringik asit (0,7-0,8 µg/g un) ve vanilik asit (1,5-1,8 µg/g un) gibi fenolik asitler de tespit edilmiştir. Siringik ve vanilik asit seviyeleri, siringik asidin acılık ile ilişkili olduğu çavdarda bildirilenlere benzerdir (Heiniö *et al.* 2008). Kunyanga ve ark. (2012) Amarant'ta hidrotermal tedavi sırasında toplam fenoliklerin ve antioksidan aktivitenin içeriğinin azaldığını bildirmişlerdir.

**Tablo 4.** Ham ve işlenmiş amarantın protein kalitesi (Velarde-Salcedo *et al.* 2019).

	Protein verimlilik oranı		Protein sindirilebilirliği (%)
	Ham	İşlenmiş	
Amarant türleri			
– <i>hypochondriacus</i>	2,5	118	79,3
– <i>cruentus</i>	2,2	115	79,2
– <i>caudatus</i>	2,2	111	80,7
Mısır	1,2	—	96,3
Buğday	1,9	—	91,7

Bu bileşikler tüketmenin önemi, hücrelerde oksidatif stres üreten Reaktif Oksijen Türlerini (ROS) azaltma kapasitelerine bağlıdır. ROS oldukça reaktiftir ve dejeneratif etkilere yol açan membran lipid peroksidasyonu ve DNA hasarı üretebilir (Georgiev *et al.* 2014). Bu nedenle, fenolik bileşiklerin antioksidan kapasitesi, inflamasyonun potansiyel olarak azaltılmasında ve kanserin önlenmesinde tahmin edilebilir; hatta bazı fenolik bileşiklerin insülin-mimetik etkiye sahip olduğu ve diyabet için alternatif bir tedavi olarak kullanılabilmesi gözlemlenmiştir (Babu *et al.* 2013). Amarant tohumlarında (14,72-14,91 mg/100 g) kafeik asit, p-hidroksibenzoik asit ve ferulik asit gibi birkaç fenolik bileşik tanımlanmıştır (Alvarez-Jubete *et al.* 2010, Valcárcel-Yamani ve da Silva Lannes 2012). Flavonoidlerin rutin ve kersetin varlığı, amarant tohumlarında (Barba de la Rosa *et al.* 2009) ve yapraklarında da rapor edilmiştir (Kalinova ve Dadakova 2009).

#### Amarant Bitkisinin Fonksiyonel Özellikleri

Amarant tohumlarında bulunan dengeli ve yüksek seviyedeki esansiyel amino asitleri sebebiyle önemli bir protein kaynağıdır. Yüksek kaliteli proteinleri oluşturan anahtar moleküller olan esansiyel amino asitlerin birçoğunu sağladığı bilinmektedir. Bu sayede bağışıklık sistemini ve kas iyileşmesini destekleyen yeni hücreler ve dokuların üretimine destek olmaktadır (Negro *et al.* 2008).

Ekstrüde amarant proteolitiklerinin aktif peptitleri aktive ederek inflamasyonu önlediği bildirildiğinden, amarant tüketmek inflamatuvar hastalıklara karşı korunmaya yardımcı olabilir. Bu nedenle, amarantı tohum formunda tüketmek iltihabı azaltmaya yardımcı olur (Laparra ve Haros 2016). Bu bağlamda, amarant tohumlarının enflamasyonu azaltmak ve enflamasyonun neden olduğu kronik hastalıkları önlemeye yardımcı olmak için diyetle dahil edilmesi düşünülmektedir (Montoya-Rodriguez *et al.* 2014).

Kalsiyumun mineralize dokular oluşmasına yardımcı olduğu bilinmektedir ve Kalsiyum kemik sağlığı açısından baştan sona önemli bir rol oynamaktadır (Macdonald *et al.* 2004). Amarant tohumları içerdiği yüksek miktarda kalsiyum sayesinde osteoporozu önlemeye ve kemik sağlığını korumaya yardımcı olmaktadır (Levis ve Lagari 2012, Galan *et al.* 2013, Sacco *et al.* 2013).

Buğday gibi gluten içeren tahılların alerjik reaksiyonlardan korunabilmek için tüketilemediği durumlarda, amarant bitkisi bir alternatif olarak giderek daha önemli hale gelmiştir (Rahaie *et al.* 2014). Amarant bitkisi, sporcu, vegan, vejeteryan, alerjik ve çölyak hastaları gibi özel durumu olanların ve sindirim sorunu yaşayan bireyler için daha sağlıklı yaşamak ve günlük hayatta performans artışı için tercih edilebilirdir (Şekil 5) (Mansueto *et al.* 2014, Inglett *et al.* 2015).



Şekil 5. Amaranth tohumu ve tohumlardan elde edilmiş amaranth unu

Serbest radikaller normal şartlarda organizmalarda metabolik aşamalar sırasında üretilir, ancak farklı bir şekilde biriktiklerinde toksik etkilere sebep olabilir ve nükleik asitleri, lipitleri ve proteinleri yıkımlayarak hastalığa neden olan oksidatif strese neden olabilirler. Bunun olumsuz sonuçları, hücre koruyucu antioksidanlar tarafından engellenebilir veya etkisi azaltılabilir. Yüksek antioksidan aktivite gösteren gıdalar tüketilerek tehlike azaltılabilir. Amaranth bünyesinde bulundurduğu biyoaktif bileşenler sayesinde oksidatif strese karşı koruyucu olarak düşünülmektedir (Pasko *et al.* 2009). Amaranth türleri antimikrobiyal özellik bakımından birçok araştırmada kullanılmıştır ve sonuç olarak bazı *Bacillus* türleri ile *Micrococcus*, *Staphylococcus* ve *Escherichia* türlerine karşı etkili olduğu tespit edilmiştir (Maiyo *et al.* 2010, Sheeba *et al.* 2012).

### 3. SONUÇ

Amaranthlar, özellikle tahıl amaranthları, geleceğin altın mahsulü olarak kabul edilmelidir. Amaranth üzerine hem sebze hem de tahıl olarak yapılan araştırmalarda da görüldüğü üzere benzersiz besleyici değerleri bulunmaktadır. Ayrıca minimum tarımsal talebi ve büyük dünya nüfusunun gıda güvenliğini göz önünde bulundurarak geleceğin yararlı süper mahsulü olacağı düşünülmektedir. Amaranth araştırmasına ilişkin mevcut literatürler, bu yeterince kullanılmayan mahsulün hak ettiği kadar ilgi görmediğini ortaya koymaktadır. Araştırma çalışmalarının çoğu, insan ve hayvan yemi olarak besleyici değeri, nişasta kullanımı, temel biyoloji, genetik ve ıslah uygulamaları üzerinde yoğunlaşmıştır. Bünyesinde bulundurduğu biyoaktif bileşenler sayesinde de potansiyel olarak antioksidan, antimikrobiyal, antikanser, antidiyabetik ve antihipertansif etkileri bulunmaktadır. Amaranth türlerini geleceğin altın mahsulü olarak kullanabilmek için multidisipliner bir araştırma yaklaşımına ihtiyaç vardır.

### 4. KAYNAKÇA

A.J. Velarde-Salcedo, E. Bojórquez-Velázquez and A.P. Barba de la Rosa (2019). Amaranth. Part III Pseudo Cereal Grains, Whole Food Nutrition. Whole Grains and their Bioactives: Composition and Health, First Edition. Edited by Jodee Johnson and Taylor C. Wallace. 2019 JohnWiley & Sons Ltd. Published 2019 by JohnWiley & Sons Ltd.

Acanski, M.M. and Vujic, D.N. (2014). Comparing sugar components of cereal and pseudocereal flour by GC-MS analysis. Food Chem. 145: 743-748.

Alvarez-Jubete, L., Arendt, E.K., and Gallagher, E. (2010). Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten-free ingredients. Trends Food Sci. Technol. 21: 106-113.

- Arreguez GA, Martínez JG and Ponessa G. (2013). *Amaranthus hybridus* L. spp. *hybridus* in an archaeological site from the initial mid-Holocene in the southern Argentinian Puna. *Quaternary International*. 307:81-85.
- Babu, P.V., Liu, D., and Gilbert, E.R. (2013). Recent advances in understanding the anti-diabetic actions of dietary flavonoids. *J. Nutr. Biochem*. 24: 1777-1789.
- Barba de la Rosa, A.P., Fomsgaard, I.S., Laursen, B. *et al.* (2009). Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) as an alternative crop for sustainable food production: phenolic acids and flavonoids with potential impact on its nutraceutical quality. *J. Cereal Sci*. 49: 117-121.
- Betschart, A.A., Irving, D.W., Shepherd, A.D., and Saunders, R.M. (1981). *Amaranthus cruentus*: milling characteristics, distribution of nutrients within seed components, and the effects of temperature on nutritional quality. *J. Food Sci*. 46: 1181-1184.
- Bressani, R. (1994). Composition and nutritional properties of amaranth. In: *Amaranth: Biology, Chemistry, and Technology* (ed. O. Paredes-López), 185-206. Boca Raton: CRC Press.
- Capriles, V.D., Coelho, K.D., Guerra-Matias, A.C., and Areas, J.A.G. (2008). Effects of processing methods on amaranth starch digestibility and predicted glycemic index. *J. Food Sci*. 73: H160-H164.
- Caruso, R., Pallone, F., Stasi, E. *et al.* (2013). Appropriate nutrient supplementation in celiac disease. *Ann. Med*. 45: 522e31.
- Chaturvedi, A., Sarojini, G., Nirmala, G. *et al.* (1997). Glycemic index of grain amaranth, wheat and rice in NIDDM subjects. *Plant Foods Hum. Nutr*. 50: 171-178. 61
- Dodok, L., Modhir, A.A., Buchtova, V. *et al.* (1997). Importance and utilization of amaranth in the food industry. Part 2. Composition of amino acids and fatty acids. *Nahrung/Food* 41: 108-110.
- Friedman, M. (1996). Nutritional value of proteins from different food sources. A review. *J. Agric. Food. Chem*. 44: 6-29.
- Galan, M.G., Drago, S.R., Armada, M., *et al.* (2013). Iron, zinc and calcium dialyzability from extruded product based on whole grain amaranth (*Amaranthus caudatus* and *Amaranthus cruentus*) and amaranth/Zea mays blends. *Int J Food Sci Nutr*. 64(4):502–507.
- Garcia, L.A., Alfaro, M.A., and Bressani, R. (1987). Digestibility and protein quality of raw and heat-processed defatted and nondefatted flours prepared with three amaranth species. *J. Agric. Food. Chem*. 35: 604-607.
- Georgiev, V., Ananga, A., and Tsoleva, V. (2014). Recent advances and uses of grape flavonoids as nutraceuticals. *Nutrients* 6: 391-415.
- Halvorsen, B.L., Holte, K., Myhrstad, M.C.W. *et al.* (2002). A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *J. Nutr*. 132: 461-471.
- He, H.P. and Corke, H. (2003). Oil and squalene in amaranthus grain and leaf. *J. Agric. Food. Chem*. 51: 7913-7920.
- Heiniö, R.-L., Liukkonen, K.-H., Myllymaki, O. *et al.* (2008). Quantities of phenolic compounds and their impacts on the perceived flavor attributes of rye grain. *J. Cereal Sci*. 47: 566-575.
- Huang, J.L., Fu, S.T., Jiang, Y.Y. *et al.* (2007). Protective effects of Nicotiflorin on reducing memory dysfunction, energy metabolism failure and oxidative stress in multi-infarct dementia model rats. *Pharmacol. Biochem. Behav*. 86: 741-748.
- Huerta-Ocampo, J.A. and Barba de la Rosa, A.P. (2011). Amaranth: a pseudo-cereal with nutraceutical properties. *Curr. Nutr. Food Sci*. 7: 1-9.
- Inglett, G., Chen, D. and Liu, S. (2015). Physical properties of gluten-free sugar cookies made from amaranth-oat Composites. *LWT – Food Sci Technol*. 63(1):214–220.
- Joshi DC, Sood S, Hosahatti R, Kant L, Pattanayak A, Kumar A, *et al.* (2018). From zero to hero: The past, present and future of grain amaranth breeding. *Theoretical and Applied Genetics*. 131(9):1807-1823.

- Kalinova, J. and Dadakova, E. (2009). Rutin and total quercetin content in amaranth (*Amaranthus* spp.). *Plant Foods Hum. Nutr.* 64: 68-74.
- Kunyanga, C.N., Imungi, J.K., Okoth, M.W. *et al.* (2012). Total phenolic content, antioxidant and antidiabetic properties of methanolic extract of raw and tradition-ally processed Kenyan indigenous food ingredients. *LWT - Food Sci. Technol.* 45: 269-276.
- Lamonthe, L.M., Srichuwong, S., Reuhs, B.L., and Hamaker, B.R. (2015). Quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) and amaranth (*Amaranthus caudatus* L.) provide dietary fibres high in pectic substances and xyloglucans. *Food Chem.* 167: 490-496.
- Laparra, J.M. and Haros, M. (2016). Inclusion of ancient Latin–American crops in bread formulation improves intestinal iron absorption and modulates inflammatory markers. *Food Funct.* 7(2):1096–102.
- Levis, S. and Lagari, V.S. (2012). The role of diet in osteoporosis prevention and management. *Curr Osteoporos Rep.* 10(4):296–302.
- Lorenz, K. and Gross, M. (1984). Saccharides of amaranth. *Nutr. Rep. Int.* 29:721-726.
- Macdonald, H.M., New, S.A., Golden, M.H., *et al.* (2004). Nutritional associations with bone loss during the menopausal transition: evidence of a beneficial effect of calcium, alcohol, and fruit and vegetable nutrients and of a detrimental effect of fatty acids. *Am J Clin Nutr.* 79(1):155–165.
- Maiyo, Z.C., Ngunjiri, R.M., Matasyoh, J.C. and Chepkorir, R. (2010). Phytochemical constituents and antimicrobial activity of leaf extracts of three *Amaranthus* plant species. *African Journal of Biotechnology.* 9:3178-3182.
- Mansueto, P.L., Seidita, A., D'Alcamo, A., *et al.* (2014). Non–celiac gluten sensitivity: literature review. *J Am Coll Nutr.* 33(1):39–54.
- Marcone, M.F., Kakuda, Y., and Yada, R.Y. (2003). Amaranth as a rich dietary source of beta-sitosterol and other phytosterols. *Plant Foods Hum. Nutr.* 58: 207-211.
- McGough, N. and Cummings, J.H. (2005). Coeliac disease: a diverse clinical syndrome caused by intolerance of wheat, barley and rye. *Proc. Nutr. Soc.* 64: 434-450.
- Meyers, K.J., Rudolf, J.L., and Mitchell, A.E. (2008). Influence of dietary quercetin on glutathione redox status in mice. *J. Agric. Food. Chem.* 56: 830-836.
- Millward, D.J. (2012). Amino acid scoring patterns for protein quality assessment. *Br. J. Nutr.* 108: S31-S42.
- Montoya–Rodríguez, A., de Mejía, E.G., Dia, V.P., *et al.* (2014). Extrusion improved the antiinflammatory effect of amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) hydrolysates in LPS–induced human THP–1 macrophage–like and mouse RAW 264.7 macrophages by preventing activation of NF– $\kappa$ B signaling. *Mol Nutr Food Res.* 58(5):1028–1041.
- Morales-Guerrero, J.C., Vázquez-Mata, N., and Bressani-Castignoli, B. (2009). Planta y semilla: composición y características nutricias. In: *El amaranto. Características físicas, químicas, toxicológicas y funcionales y aporte nutrición*, 53-89. Mexico City: Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.
- Mota, C., Santos, M., Mauro, R. *et al.* (2016). Protein content and amino acids profile of pseudocereals. *Food Chem.* 193: 55-61.
- Nascimento, A.C., Mota, C., Coelho, I. *et al.* (2014). Characterisation of nutrient profile of quinoa (*Chenopodium quinoa*), amaranth (*Amaranthus caudatus*), and purple corn (*Zea mays* L.) consumed in the North of Argentina: proximates, minerals and trace elements. *Food Chem.* 148: 420-426.
- National Research Council. (1984). *Amaranth: Modern Prospects for an Ancient Crop*. Washington, DC, USA: The National Academies Press; 1984. <https://doi.org/10.17226/19381>

- Negro, M., Giardina, S., Marzani, B., *et al.* (2008). Branched-chain amino acid supplementation does not enhance athletic performance but affects muscle recovery and the immune system. *J Sports Med Phys Fitness*. 48(3):347–351.
- Ötles, S. and Ozgoz, S. (2014). Health effects of dietary fiber. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment*. 13: 191-202.
- Pasko, P., Barton, H., Zagrodzki, P., *et al.* (2009). Anthocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. *Food Chem*. 115(3):994–998.
- Pedersen, B.B., Kalinowski, L.S., and Eggum, B.O. (1987). The nutritive value of amaranth grain (*Amaranthus caudatus*): I. Protein and mineral of raw and processed grain. *Plant Foods Human. Nutrition* 36: 809-824.
- Pina-Rodriguez, A.M. and Akoh, C.C. (2009). Synthesis and characterization of a structured lipid from amaranth oil as a partial fat substitute in milk-based infant formula. *J. Agric. Food. Chem*. 57: 6748-6756.
- Rahaie, S., Gharibzahedi, S.M., Razavi, S.H., *et al.* (2014). Recent developments on new formulations based on nutrient-dense ingredients for the production of healthy-functional bread: a review. *J Food Sci Technol*. 51(11):2896–2906.
- Rastogi, A., Shukla, S. (2013). Amaranth: A New Millennium Crop of Nutraceutical Values. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 53(2):109–125.
- Resio, A.C. and Suarez, C. (2001). Gelatinization kinetics of amaranth starch. *Int.J. Food Sci. Technol*. 36: 441-448.
- Sacco, S.M., Horcajada, M.N., Offord, E. (2013). Phytonutrients for bone health during ageing. *Br J Clin Pharmacol*. 75(3):697–707.
- Saunders, R.M. and Becker, R. (1984). *Advances in Cereal Science and Technology*, vol. VI (ed. Y. Pomeranz), 357. Minneapolis: American Association of Cereal Chemists.
- Sheeba, A.M., Deepthi, S.R., Mini, I. (2012). Evaluation of antimicrobial potential of an invasive weed *Amaranthus spinosus L.* In: Sabu A, Augustine A, editors. *Prospects in Bioscience: Addressing the Issues*. India: Springer;117-123
- Singh N. ve Singh P. (2011). Amaranth: Potential Source for Flour Enrichment. In book Chapter 10: Flour and Breads and their Fortification in Health and Disease Prevention. DOI: 10.1016/B978-0-12-380886-8.10010-8.
- Singhal, R.S. and Kulkarni, P.R. (1988). Composition of the seeds of some *Amaranthus* species. *J. Food Sci*. 42: 325-331.
- Stone, L.A. and Lorenz, K. (1984). The starch of *Amaranthus* - physicochemical properties and functional characteristics. *Starch/Stärke* 36: 232-237.
- Tang, Y., Li, X., Chen, P.X. *et al.* (2016). Assessing the fatty acid, carotenoid, and tocopherol compositions of amaranth and quinoa seeds grown in Ontario and their overall contribution to nutritional quality. *J. Agric. Food. Chem*. 64: 1103-1110.
- Teutónico, R.A. and Knorr, D. (1985). Amaranth: composition, properties, and applications of a rediscovered food crop. *Food Technol*. 39: 49-60.
- Valcárcel-Yamani, B. and da Silva Lannes, S.C. (2012). Applications of Quinoa (*Chenopodium Quinoa Willd.*) and Amaranth (*Amaranthus* spp.) and their influence in the nutritional value of cereal based foods. *Food Public Health* 2: 265-275.
- Young, V.R. (1998). Human amino acid requirements: counterpoint to Millward and the importance of tentative revised estimates. *J. Nutr*. 128: 1570-1573.
- Zhu, F. (2017). Structure, physicochemical properties, and applications of amaranth starch. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*. 57: 313-325.



AMARANTIN GENEL ÖZELLİKLERİ VE TOHUMLARININ KİMYASAL BİLEŞİMİ  
GENERAL PROPERTIES OF AMARANTH AND THE CHEMICAL COMPOSITION OF  
SEEDS

**Murat ATASEVEN<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi,  
Gıda Mühendisliği Bölümü, Adana, Türkiye.

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9755-4979>

**Osman KOLA<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi,  
Gıda Mühendisliği Bölümü, Adana, Türkiye.

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0000-248X>

**Oktay TOMAR<sup>3</sup>**

<sup>3</sup>Kocaeli Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Ekonomisi Bölümü, Kocaeli, Türkiye.

<sup>3</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5761-7157>

**ÖZET**

Gıdaya olan talep, sadece artan nüfus için gıda ihtiyacını karşılamak için değil, aynı zamanda kaliteli proteinler ve tedavi amaçlı bileşikler açısından zengin, besleyiciliği yüksek gıdalar sağlamak için de artmaktadır. Ayrıca, evsel ve endüstriyel ihtiyaçların artmasına bağlı olarak düşük yağışlı yarı kurak bölgelerde su kaynakları daha sınırlı olacağından ileriki zamanlarda üretilecek ürünlerin düşük su kullanımına daha uygun olması gerekmektedir. İklim değişikliğini de göz önünde bulundurarak şu anda üretimi yapılan mahsullere potansiyel olarak alternatif mahsullerin araştırılmasına acil bir ihtiyaç vardır. Günümüzde yeterince kullanılmayan bir bitki olan Amarant, Amerika kıtasında ve dünya çapında yaklaşık 7000 yıllık geçmişe sahip bir bitkidir. Ayrıca beslenme ve sağlık sorunlarının çözülmesine yardımcı olabilecek bir kaynaktır. Amarant, kinoa (*Chenopodium quinoa*) ve karabuğday (*Fagopyrum esculentum*) gibi hem tahılların hem de otların (*Poaceae*) ve baklagillerin (*Fabaceae*) fizyolojik özelliklerine sahip olduğundan yalancı tahıl olarak kabul edilir. Amarant, 25°C'nin üzerindeki gündüz sıcaklıklarında ve 15°C'den yüksek gece sıcaklıklarında hızlı büyüme gösterir. Bol güneş ışığına ve sıcaklığa olumlu yanıt vermektedir ayrıca yüksek tuz oranı, asidik veya alkali toprak dahil çeşitli olumsuz abiyotik koşulları rahatlıkla tolere edebilir. Bu özellikleri sayesinde geçimlik tarım için mükemmel bir kaynaktır. Bununla birlikte, düşük sıcaklık, amarant üretimini etkileyen birkaç çevresel stres faktöründen biridir. Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (NCBI) kayıtlarına göre *Amaranthus* cinsine ait 50 tür vardır. Anavatanı Güney Amerika olan *Amaranthus caudatus*, ilk olarak Orta Amerika'da yetiştirilen *A. cruentus* ve yine ilk olarak Meksika'da yetiştirildiği tespit edilen *A. hypochondriacus* olmak üzere üç amarant türünün insan tüketimi için en uygun türler olduğu kabul edilmektedir. Bu türlerin hepsi de benzersiz kimyasal bileşime sahiptir ve aynı şartlarda karşılaştırıldıklarında üstün besin dengesine sahiptirler. Tahıllar, baklagiller veya yağlı tohum bitkileri gibi diğer tahıllara temel oluşturur. Bu sebeple, diyet ve spora dayalı sağlıklı bir yaşamla ilgili endişeler sebebiyle gıda olarak amaranta ilgi yoğunlaşmıştır. Amarant tohumundaki proteinler, proteinlerin %80'inin endospermde bulunduğu mısır ve pirinç gibi tahıllardan farklı olarak esas olarak embriyoda %65 oranında bulunur. Farklı tahıl tohumları ile karşılaştırıldığında Mısır, Sorgum, Buğday ve Pirinç tohumlarına göre daha yüksek protein, yağ ve diyet lifi içeriğine sahiptir. Nişasta içeriği bakımından ise bahsedilen diğer tahıl tohumlarına göre daha fakirdir. Bu özellikleri sayesinde amarant, günlük diyetle kullanmak için çeşitli olanaklar sunmaktadır. Bu çalışmada amarantın genel özellikleri ve yapısı ile yapılan çalışmalar ve sonuçları derlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Amaranthus* spp., Amarant, Tahıl, Pseudo

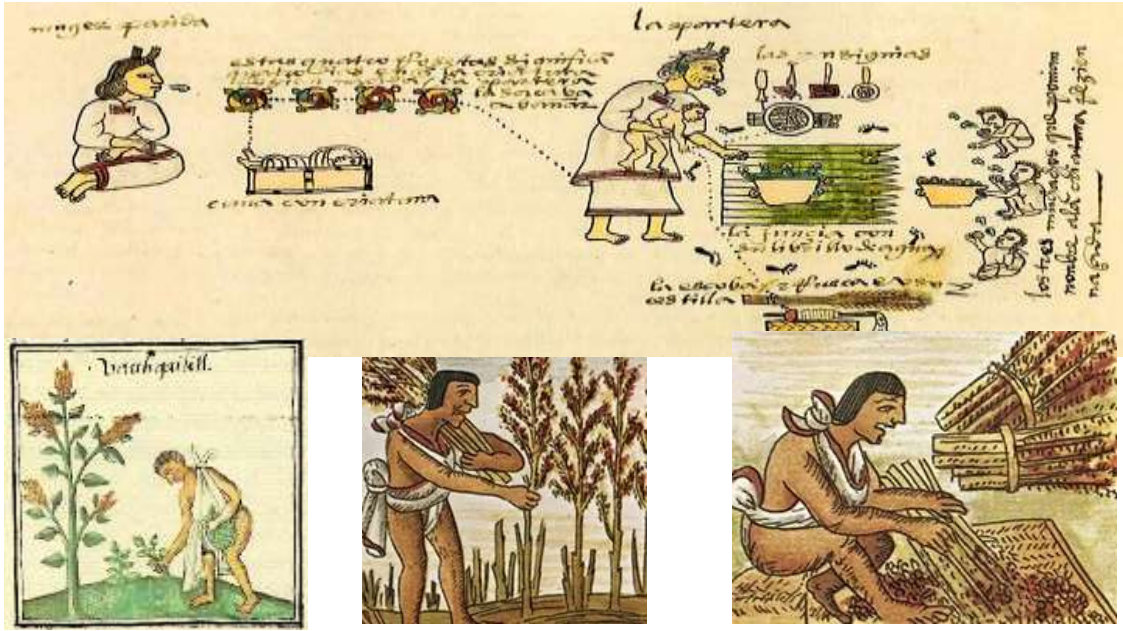
## ABSTRACT

The demand for food is increasing not only to meet the food needs of a growing population, but also to provide nutritious foods rich in quality proteins and therapeutic compounds. In addition, since water resources will be more limited in semi-arid regions with low precipitation due to the increase in domestic and industrial needs, the products to be produced in the future should be more suitable for low water use. There is an urgent need to explore potential alternative crops to the crops currently produced, taking into account climate change. Amaranth, a plant that is not used enough today, is a plant with a history of about 7000 years in the Americas and around the world. It is also a resource that can help solve nutritional and health problems. Amaranth is considered a pseudocereal as it has physiological properties of both cereals and grasses (*Poaceae*) and legumes (*Fabaceae*), such as quinoa (*Chenopodium quinoa*) and buckwheat (*Fagopyrum esculentum*). Amaranth grows rapidly at daytime temperatures above 25°C and at nighttime temperatures above 15°C. It responds positively to abundant sunlight and temperature, and can easily tolerate various adverse abiotic conditions, including high salt content, acidic or alkaline soil. Thanks to these features, it is an excellent resource for subsistence agriculture. However, low temperature is one of the few environmental stress factors that affect amaranth production. According to the records of the National Center for Biotechnology Information (NCBI), there are 50 species belonging to the genus *Amaranthus*. It is accepted that three amaranth species, *Amaranthus caudatus*, whose homeland is South America, *A. cruentus*, which was first grown in Central America, and *A. hypochondriacus*, which was first found to be grown in Mexico, are the most suitable species for human consumption. All of these species have unique chemical composition and superior nutritional balance when compared under the same conditions. Cereals form the basis for other grains such as legumes or oilseed crops. For this reason, due to concerns about a healthy life based on diet and sports, interest in amaranth as a food has intensified. The proteins in amaranth seed are mainly found in the embryo at a rate of 65%, unlike grains such as maize and rice, where 80% of the proteins are found in the endosperm. Compared to different grain seeds, it has higher protein, oil and dietary fiber content than Corn, Sorghum, Wheat and Rice seeds. In terms of starch content, it is poorer than the other cereal seeds mentioned. Thanks to these features, amaranth offers various possibilities to use in the daily diet. In this study, the general properties and structure of amaranth and the studies and results were compiled.

**Keywords:** *Amaranthus* spp., Amaranth, Cereal, Pseudo

## 1. GİRİŞ

Amaranth (*Amaranthus* spp.), Peru'da And Dağları bölgesinde "kiwicha" ve Orta Meksika'nın Mezoamerikan halkının dili olan Nahuatl'da "huauhtli" olarak bilinmekte ve Amerika'ya özgü olarak kabul edilmektedir (NRC 1984, Espitia-Rangel 1994). Amaranth, Kolomb öncesi Amerikan medeniyetleri Aztek, Maya ve İnka'nın temel gıdalarından biridir (Şekil 1). Meksika'nın merkezine yakın Tehuacán ve Tlapacoyan'daki arkeolojik buluntular, amaranthın 5000-7000 yıl önce Mesoamerica'da zaten ekilmekte olduğunu göstermektedir (Kulakow ve Hauptli 1994, Morán-Bañuelos *et al.* 2012). Ayrıca, Mexico City'deki Büyük Tenochtitlan Tapınağı'nda Aztek yağmur tanrısı Tlaloc'a sunulan çamur kaplarında amaranth tohumları bulunmuştur. Bu bulgular, İspanyol öncesi toplumlarda amaranthın dini, tarımsal ve ekonomik önemini desteklemektedir (Montúfar-López 2012, Montúfar-López 2016).



Şekil 1. Azteklerde amarant yetiştiriciliği ve tüketimi

Zaman içerisinde Amerika kıtasında, Amarantın ekonomik ve kültürel önemine rağmen, üretimi ve tüketimi azalmıştır. Çünkü İspanyol kolonileri doğurganlığa, tarımsal döngülere ve insan kurban etmeye adanmış pagan törenleriyle ilgili olduğu için halka amarant tüketmelerini yasaklamıştır. Amarantın yerini Avrupalılar tarafından tercih edilen ekinler almıştır (Grosz-Heilman *et al.* 1990, Morán-Bañuelos *et al.* 2012). Ancak uzak bölgelerde amarant ekimi geleneksel bir şekilde devam ederek günümüze kadar gelmiştir. Geleneksel amarant kullanımları arasında bal ve patlamış amarant ile yapılan “alegrías” olarak bilinen şekerler bulunmaktadır (Şekil 2). Son yıllarda ise amarant kullanımı besleyici ve nutrasötik özelliklerinden dolayı artmıştır (Barba de la Rosa *et al.* 2010, Velarde-Salcedo *et al.* 2013). İspanyolların Amerika kıtasını fethinden sonra, huauhtli bitkileri 1753 yılında Carl Linnaeus tarafından *Amaranthus* cinsi içinde tanımlanmış ve taksonomik olarak sınıflandırılmıştır (Costea ve Tardif 2003).



Şekil 2. Bal ve patlamış amarant ile yapılan “alegrías” olarak bilinen şekerleme

## 2. AMARANT BİTKİSİNİN SINIFLANDIRMASI VE ÖZELLİKLERİ

Amarant taksonomik olarak *Caryophyllales* takımına, *Amarantaceae* familyasına, *Amaranthus* cinsine aittir. Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (NCBI, [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) kayıtlarına göre *Amaranthus* cinsine ait 50 tür vardır. Bununla birlikte 60'ı yerli olmak üzere yaklaşık 70-80 türün varlığı tahmin edilmektedir. Türlerin varlığı Amerika kıtasına kadar uzanmakta ve çok çeşitli habitatlara geniş bir şekilde dağılmaktadır (Espitia-Rangel 1994, Escobedo-López *et al.* 2014). Bu türlerin 400'den fazla çeşidi dünya çapında hem ılıman hem de tropikal iklimlerde bulunabilmekte ve kabaca tahıl, sebze, süs veya yabani ot olmak üzere dört kategoriden birine girmektedir.

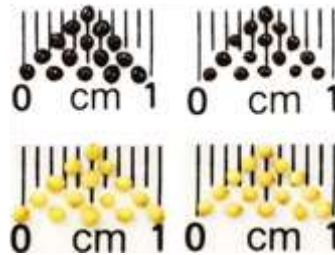
Güney Amerika'dan *Amaranthus caudatus*, Meksika ve Orta Amerika'dan *A. cruentus* ve Meksika'dan *A. hypochondriacus* olmak üzere üç amarant türünün insan tüketimi için yetiştirildiği kabul edilmektedir (Şekil 3). Diğerleri ekstrem koşullarda büyüeyebilen yabancı türlerdir; *A. retroflexus* ve *A. palmieri* gibi bazıları, diğer mahsullerin geniş alanlarını işgal ettikleri ve sırasıyla glifosata karşı direnç geliştirdikleri için çok agresif yabancı otlar olarak sınıflandırılır (NRC 1984, Bond *et al.* 2006, Ward *et al.* 2013).



Şekil 3. Amarant türleri. Sırasıyla *A. Hybridus*, *A. Retroflexus*, *A. Caudatus*, *A. Curuentus*.

Kulakow ve Hauptli (1994) amarant genetik kaynaklarını her biri bir öncekinden daha spesifik olmak üzere beş düzeyde sınıflandırmıştır: (i) yabancı ve yabancı ot akrabaları, (ii) ekili tahıl türleri, (iii) ırklar veya tahıl türleri, (iv) yerel tür popülasyonları, ve (v) genetik stoklar, üreme hatları ve çeşitler. Yukarıda bahsedilen yabancı türlere ek olarak, ekilen tahıl türlerinin ataları olarak kabul edilen üç yabancı tür daha özel ilgi görmektedir: *A. hybridus*, *A. powellii* ve *A. Quinsis*. Sauer (1950, 1967), tahıl amarantlarının kökeni hakkında iki hipotez önermiştir; ilki, ekilen her türün farklı bir atadan geldiğini ve farklı bölgelerdeki bireysel evcilleştirme olayları tarafından geliştirildiği: *A. caudatus*, *A. Quinsis* Güney Amerika'da, *A. cruentus* Orta Amerika'da *A. hybridus*'tan ve *A. hypochondriacus* Meksika'da *A. powellii*'den. İkinci hipotez ise, tahıl amarantları için tek bir köken kurar, *A. cruentus*'un Orta Amerika'daki *A. hybridus*'tan geldiğini ve daha sonra kuzey ve güney bölgelerinden göç yoluyla yerel vahşi popülasyonlarla melezleşmenin *A. hypochondriacus* ve *A. caudatus*, sırasıyla. *A. powellii* hariç bu yabancı ve kültüre alınmış türler, *A. hybridus* kompleksi olarak adlandırılır (Kietlinski *et al.* 2013).

Tahıl amarantlarının filogenetik kökenlerini sınıflandırmanın ve belirlemenin ilk amaçları, morfolojiye, yaprakların ve gövdelerin şekli ve rengine, gövde dallarına ve çiçeklenme veya salkımlara dayanmaktadır (Sauer 1950). Bununla birlikte, *Amaranthus*, artan benzerlik, geniş coğrafi dağılım ve bir amarant türünün diğerine olan tanımlayıcılarının yüksek varyasyonu nedeniyle taksonomik analiz için özellikle zor bir gruptur (Achigan-Dako *et al.* 2014, Sogbohossou ve Achigan-Dako 2014). *Amaranthus* cinsinin üyeleri arasında genetik çeşitlilik çok büyüktür ve türe bağlı olarak karyotip  $2n=32$ , 33 veya 34 olabilir. Gerçekte, aynı türe ait aksesyonlar arasında karyotip varyasyonu bildirilmektedir. Çok sayıda türe ek olarak, her biri birkaç ırktan veya katılımdan oluşur ve ayrıca doğada önceden var olan çeşitler arasındaki çaprazlamalardan sürekli olarak yeni melez bireyler üretilir (Brenner *et al.* 2000, Pal *et al.* 2000). Genetik çeşitlilik fenotipler tarafından yansıtılır; örneğin, daha kalın testisli siyah tohumları olan yabancı türlerin aksine, ekili tahıl türleri beyaz veya soluk tohumlar geliştirir (Şekil 4) ve özellikle belirgin olan, tahıl amarantlarında çoklu küçük salkımlardan farklı olan büyük bir tek terminal salkım gelişimidir (Şekil 5).



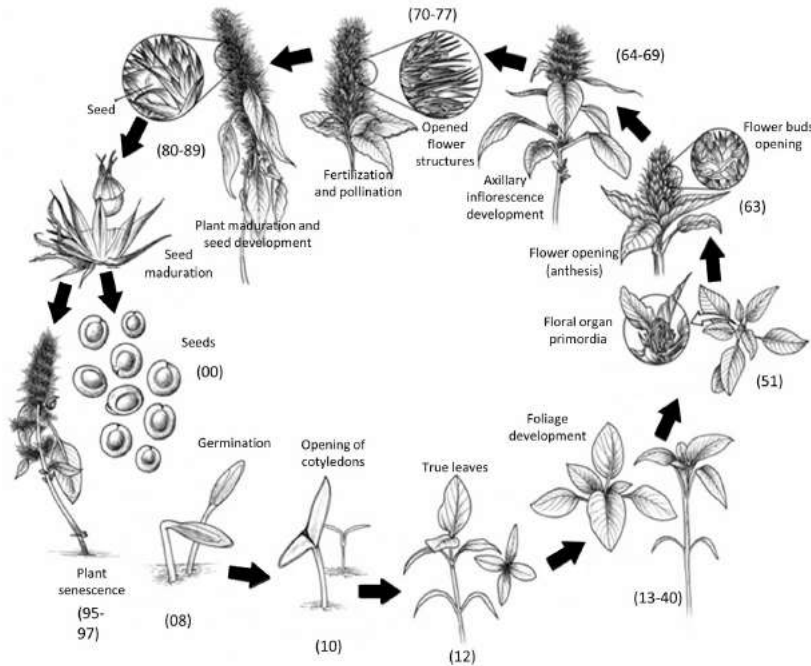
Şekil 4. Yabancı amarant tohumları ekili türler arasındaki fenotip farklılıklar (Velarde-Salcedo *et al.* 2019).



Şekil 5. Otlı ve taneli amarantlar arasındaki salkım gelişiminde farklılıklar (Velarde-Salcedo *et al.* 2019).

Morfolojik özelliklerin değerlendirilmesi, germplazmın ilk sınıflandırması için yararlı bir araçtır, ancak genetik çeşitlilik ve her türün büyüme ve uyulanabilirliğinin spesifik özellikleri göz önüne alındığında, evrimsel tarihinin sağlam bir filogenetik temelini elde etmek için daha doğru tanımlama yöntemlerine ihtiyaç vardır (Transue *et al.* 1994, Wassom ve Tranel 2005, Maughan *et al.* 2011, Lymanskaya 2012, Jimenez *et al.* 2013, Oduwaye *et al.* 2014, Park *et al.* 2014, Slugina *et al.* 2014, Suresh *et al.* 2014). Bununla birlikte, tahıl amarantlarının kökenleri hakkındaki Sauer hipotezini kanıtlamayı veya çürütmeyi zorlaştıran bazı faktörler hala bulunmaktadır. Birincisi, kullanılan örneklerin doğru coğrafi bölgelerde toplanmadıkları, orijinal yerlerden veya kesin coğrafi koordinatlardan bahsedilmediği için hipotezde önerilen evrimsel doğayı yansıtmamasıdır. Diğer çalışmalar, yalnızca yabani veya kültüre alınmış türleri kapsar, ancak ikisini birden kapsamaz ve en önemli eksiklik ise morfolojik özellikler ile moleküler veriler arasında bir korelasyonun bildirilmemesidir (Maughan *et al.* 2011, Jimenez *et al.* 2013, Park *et al.* 2014, Slugina *et al.* 2014, Suresh *et al.* 2014).

Kietlinski ve ark. (2013) ile Adhikary ve Pratt (2015), *A. hybridus* kompleksini sırasıyla moleküler ve morfolojik seviyelerde inceleyerek, analiz edilen örneklerin toplandığı tam coğrafi konumu tespit etmişlerdir. Kietlinski ve ark. (2013), üç tane amarant türüne yol açan en az iki ayrı evcilleştirme olayında, tahıl amarantlarının *A. hybridus* kültürleri gibi görüldüğü sonucuna varmışlardır. *A. caudatus* ve *A. hypochondriacus*, translokasyon olayı ile tek bir evcilleştirmeye veya tek bir *A. hybridus* soyundan ayrı evcilleştirmelere dayalı olarak yakından ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Şekil 6).



Şekil 6. Amarant bitkisinin yaşam döngüsü (Martínez-Núñez *et al.* 2019).

Amarant, kinoa (*Chenopodium quinoa*) ve karabuğday (*Fagopyrum esculentum*) gibi hem tahılların hem de otların (*Poaceae*) ve baklagillerin (*Fabaceae*) fizyolojik özelliklerine sahip olduğundan yalancı tahıl olarak kabul edilir. Hububatlar monokotiledonlu bitkilerdir, yani sadece bir kotiledon (tohum yaprağı) geliştirirler, bu da çimlenme sırasında fide gelişiminin ilk aşamalarında ana fotosentetik organ olarak hizmet eder. Tahıllar, paralel damar sistemleri ile lifli ve dar yapraklara sahiptir; saplar, yaprakların filizlenebileceği mevcut düğümler, genellikle dikey biçimde düşük büyüme ile buğday (*Triticum sativum*) veya sorgum (*Sorghum bicolor*) durumunda 0,5-2 m'ye veya mısır (*Zea mays*) ve şeker gibi 3-6 m'ye kadar kamış (*Saccharum officinarum*) ve tohumları sivri uçlarda sentezlenir. Buna karşılık baklagiller, dallı damar sistemi ve büyümesi olan dikotiledonlu bitkilerdir, örneğin fasulye (*Phaseolus vulgaris*) ve nohut (*Cicer arietinum*) gibi küçük çalılar veya soya fasulyesi (*Glycine max*) gibi 0,5-1 m yüksekliğinde dallanmış dikey bitkilerin tohumları kılıflarla kaplıdır (de la Olán *et al.* 2012).

Fizyolojik bakış açısından, tohumları, tahıl sivri uçlarına benzeyen salkımlarda geliştirilmiştir ve ekili amarantın merkezi gövdesi dikey bir büyüme alışkanlığına sahiptir; bazı türler 3-5 m yüksekliğe ulaşabilir ve hem aksiller hem de terminal çiçek salkımları silindirik sivri veya salkımlarda düzenlenir (Şekil 7) (de la Olán *et al.* 2012). Bununla birlikte, baklagiller gibi, amarant dikotiledonlu bir bitkidir, üzerinde en küçük salkımların büyüdüğü çoklu ikincil gövdeler geliştirir, geniş yapraklı dallı vaskülariteye sahiptir ve bazı yabancı türler küçük çalılar gibi görünür.



**Şekil 7.** *A. Cruentus* türleri düşük yağışlı yarı kurak bir alanda büyümesine karşın 2,5 m yüksekliğe ulaşabilmektedir (de la Olán *et al.* 2012).

Kara bitkilerinin sadece %3'ü C<sub>4</sub> metabolizmasına sahiptir ve çoğunlukla mısır ve şeker kamışı gibi tropik otlar tarafından temsil edilir. Amarant, ilk fotosentetik ürünün, yüksek sıcaklık bölgelerindeki bitkilerin özelliği olan dört karbonlu bir bileşik olduğu, NAD-ME tipi C<sub>4</sub> fotosentezinin bir parçası olarak sınıflandırılan yıllık bir bitkidir. Amarantta anatomik özellikler ve C<sub>4</sub> metabolizmasının kombinasyonu, hem sıcaklık hem de nem stresi ortamlarında geniş bir aralıkta artan CO<sub>2</sub> verimliliği ile sonuçlanır ve bitkinin çeşitli çevresel koşullara geniş coğrafi uyumluluğuna katkıda bulunur. Amarant, 25°C'nin üzerindeki gündüz sıcaklıklarında ve 15°C'den düşük olmayan gece sıcaklıklarında hızlı ve iyi bir şekilde büyümektedir (Achigan-Dako *et al.* 2014). Bol güneş ışığına ve sıcaklığa iyi yanıt verir, yüksek tuzluluk, asitlik veya alkalilik dahil olmak üzere çeşitli olumsuz abiyotik koşulları tolere edebilir ve bu da onu geçimlik tarım için benzersiz hale getirmektedir (Délano-Frier *et al.* 2004, Parra-Cota *et al.* 2014). Bununla birlikte, düşük sıcaklık, amarant üretimini etkileyen birkaç çevresel stres etkeninden biridir (Parra-Cota *et al.* 2014).

#### ***Amaranthus cruentus***

İlk olarak M.Ö. 4000 yıllarında yetiştirildiği tahmin edilen *Amaranthus cruentus*, tahıl olarak *Amaranthus hybridus* (Şekil 8) türünden türetilmiştir. Sebze olarak tropikal bölgede geleneksel olarak tüketilmektedir. Tohumları, sarıya yakın beyazdan açık kahve tonlarına kadar renk çeşitliliğine sahiptir ve bu tohumlar tahıl olarak Güney Amerika (Latin)'da tüketilmektedir (Costea *et al.* 2001).



**Şekil 8.** *Amaranthus cruentus*

Hindistan ve Nepal'in dağlık bölgelerinde yaygın olarak yalancı tahıl olarak kullanılmaktadır (Grubben, 1975; 1993). Yeni yetişmekte olan fidelerin yaprakları sebze olarak tüketilmektedir (Holland *et al.* 1991). Sıcak ve susuz bölgelerde yetiştirmeye uygun olan tahıl türü amarantlar ABD, Arjantin ve Çin Halk Cumhuriyeti'nde ticari amaçla üretilmektedir (Jain ve Sutarno 1996). Ayrıca *A. Cruentus* hayvan yemi içinde kullanılmaktadır. Ancak içeriğinde bulunan kalsiyum oksalat düzeyinden dolayı sınırlı kullanımı söz konusudur (Leung *et al.* 1968, Maundu *et al.* 1999).

#### ***Amaranthus hypochondriacus***

Yabani amarant türlerinden powelli ile *A. Cruentus* türlerinin biraraya gelmesi ile oluşan *Amaranthus hypochondriacus* (Şekil 9) ilk olarak Kuzey Amerika'da yetiştirilmiştir. Dünya çapında birçok iklim özelliğinde yaygın bir dağılım göstermektedir ayrıca sebze ve tahıl olarak tüketilmesinin yanı sıra süs bitkisi olarakta yetiştirilmektedir (Rajan ve Markose 2007). Sebze olarak genellikle Asya ve Afrika ülkelerinde tercih edilmekle birlikte içeriğinde bulunan fenolik bileşikler sebebiyle buruk tada sahiptir. Genellikle yaprak ve gövdeleri tercih edilmektedir. Geleneksel tedavi yöntemlerinde yaralanmalar için de kullanılmaktadır (Jansen 2004).



**Şekil 9.** *Amaranthus hypochondriacus*

Boyları 2 metreye kadar ulaşabilen bu tür sert ve sağlam bir gövdeye sahiptir (Grubben ve Denton 2004). Çiçekleri genellikle kırmızı tonlarındadır ancak sarıdan yeşile kadar geniş bir renk yelpazesinde olması da mümkündür. Tohumları ise parlak koyu renkli siyaha yakın düzgün bir yüzeye sahiptir (Pink 2004, Barba de la Rosa *et al.* 2009).

#### ***Amaranthus caudatus***

Çağlar öncesine dayanan tarihi ile *Amaranthus caudatus* (Şekil 10) Güney Amerika topraklarında And Dağları bölgesinde eski uygarlıklar tarafından tahıl olarak yetiştirilmiştir (Agong ve Ayiecho 1991, Bale ve Kauffman 1992, Brenner *et al.* 2000). Avrupa üzerinden Asya ve Afrika ülkelerine yayılım gösteren bu tür tahıl olarak yetiştirilmekte ve tüketilmektedir (Brenner *et al.* 2000). Tohumları çimlendirilerek sebze olarak

tüketilirken geri kalan kısımlar ise hayvan yemi olarak değerlendirilmektedir (Costea *et al.* 2001). Tek yıllık ömre sahip bitkinin gövdesi sağlam bir yapıdadır ve çiçekleri kırmızı tonlara sahiptir (Sauer 1967, Williams ve Brenner 1995, Townsend 2000).



**Şekil 10.** *Amaranthus caudatus*

### **Sebze Olarak Tüketilen Amaranthın Faydaları**

Kültürü yapılan birçok sebze amarant türünün yaprakları, sürgünleri ve sulu yumuşak sapları, soslarda veya çorbalarda ot olarak tüketilmekte, diğer sebzelerle birlikte pişirilmekte ve ana yemekle birlikte veya tek başına tüketilmektedir. Tane amarantlarının genç yaprakları da yapraklı sebze olarak kullanılır. Amaranth yaprakları yüksek miktarda protein, vitamin, mineral ve diyet lifi için iyi bir kaynaktır. Kıyılmış bitkiler, hayvancılık için yem olarak da kullanılabilir (Das 2016).

Bitkisel amarantların insan sağlığı üzerinde bazı yararları bulunmaktadır. Bitkisel amarantlar karbonhidratlar, proteinler, K vitamini, folat, riboflavin, A vitamini, B6 vitamini ve C vitamini açısından çok zengindir. Amaranth yaprakları vücuttaki enerjiyi artırır. Yapraklardaki ham protein içeriği, kuru ağırlık bazında %20 ile %32 arasında değişmektedir (Das 2016). Amaranth yaprakları vücutta yeterli elektrolit dengesini sağlamak için gerekli olan manganez, demir, bakır, kalsiyum, magnezyum, potasyum ve fosfor gibi elementlerin çok iyi bir kaynağıdır. Gluten intoleransı olan veya çölyak hastalığından muzdarip olan vejeteryenler, amarant yeşilliklerinden günlük önerilen dozda protein alabilirler. Buğday, çavdar, pirinç ve yulaf gibi diğer bitkisel kaynaklarla karşılaştırıldığında, amarantlar glutensizdir ve eksiksiz amino asit seti ile birlikte %30 daha fazla protein içerir (Das 2016). Buğdayın üç katı kadar yüksek diyet lifi içeriği nedeniyle sindirim sistemini iyileştirebilir ve kabızlığı azaltabilir. Kolay sindirilebilir, bu nedenle hem gençler hem de yaşlılar için tavsiye edilmektedir. Yapraklardaki protein, kandaki insülin seviyelerini düşürmeye yardımcı olur ve aynı zamanda açlık krizlerini önleyen bir hormon salgılar. Bitkisel amarant yapraklarının sağlık açısından en önemli faydalarından biri, kolesterol düşürme kapasiteleridir. Yüksek lif içeriği nedeniyle, amarant kandaki LDL seviyelerini düşürmede etkilidir ve kilo kaybını destekler. Bitkilerde bulunan bir tür E vitamini olan tokotrienoller de kolesterolü düşürme yeteneğine katkıda bulunur. Demir açısından zengin kırmızı amarant yaprakları, kanda pıhtılaşmayı destekler ve hemoglobin içeriğini ve alyuvar sayısını artırır. Aynı zamanda kandaki hemoglobin seviyesini artırmak için gerekli olan mükemmel bir folik asit kaynağıdır. Amaranth yaprakları, kan basıncını düşüren ve inme dahil kalp rahatsızlıklarını önleyen mükemmel fitosterol kaynağıdır. E vitamini, demir, magnezyum, fosfor, potasyum ve C vitamini ile birlikte lizin varlığı, yaşlanmadan ve kötü huylu hücrelerin oluşumundan sorumlu serbest radikallere karşı savaşmaya yardımcı olur. Taze amarant yapraklarından elde edilen meyve suyu ishal ve kanamayı tedavi etmek için kullanılabilir.

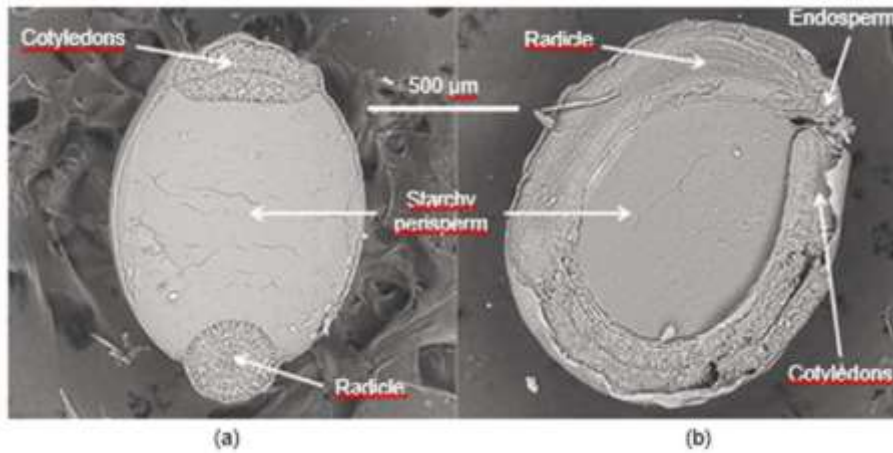
Amaranth yapraklarının harika kozmetik faydaları vardır. Düzenli tüketimin yanı sıra yaprak sularının uygulanması kırılğan saçların dökülmesini engellemektedir. Amaranth yapraklarının bu harika kozmetik faydası aynı zamanda erken grileşmenin başlamasını da geciktirir (Das 2016). Amaranth yapraklarında bulunan kalsiyum osteoporoz ve diğer kalsiyum eksikliği ile ilgili bozuklukların riskini azaltmaya yardımcı olur. Amaranth yaprakları mükemmel bir  $\beta$ -karoten



kaynağıdır. Amaranth bitkisinin diyetle günlük olarak dahil edilmesi, körlüğe neden olan A vitamini eksikliğini önlemeye yardımcı olabilir. Günde 50-100 g amarant yaprağı tüketimi ile çocuklarda yetersiz beslenmeye bağlı körlük insidansının azaldığı bildirilmektedir (Das 2016). Amaranth yaprakları, diğer bazı sebzeler gibi oldukça yüksek miktarda oksalik asit ve nitrat içerir. Oksalik asit miktarı kabaca ıspanak (*Spinacia oleracea*) ve pazı (*Beta vulgaris var. cicla*) ile aynıdır. Aşırı miktarda oksalik asit, vücuttaki belirli minerallerin, özellikle kalsiyumun kullanılabilirliğini azaltabilir. Bu, özellikle kalsiyum alımının düşük olduğu veya yüksek miktarda oksalik asit içeren yiyeceklerin düzenli olarak uzun süre tüketildiği durumlarda problem olabilmektedir (Devadas *et al.*1984). Amaranth yapraklarında bulunan nitratların sindirim sisteminde kanserojen nitrozaminlere dönüşebileceği düşünülmektedir (Devadas *et al.*1984). Ispanak veya pazı gibi amarant yapraklarının 5-10 dakika kaynatılıp suyunun atılmasının hem oksalat hem de nitrat problemlerini gidermede etkili olduğu kanıtlanmıştır, ancak araştırmalar günde 200 gr pişmiş amarant tüketiminin herhangi bir sağlık sorunu oluşturmadığını göstermiştir. Amaranthlardaki mevcut nitrat ve oksalat düzeyi normal tüketim koşullarında beslenme sorunu oluşturmamaktadır (Devadas *et al.*1984).

### 3. AMARANT TOHUMU ÖZELLİKLERİ VE KİMYASAL BİLEŞİMİ

Amarant tohumları pürüzsüz, parlak ve hafif yassı olup, 0,9 ile 1,7 mm uzunluğunda ve 1,0 ile 1,3 mm genişliğinde mercek şeklinde bir biçime ve boyuta sahiptir (Şekil 11). Amaranth tohum ağırlığı, yaklaşık 0,6-1,9 mg/tohum ile 1000 ile 3000 tohum/g arasında değişir. Tohumun en büyük kısmı daire şeklinde sarılmış embriyodur. Embriyo perisperm ile çevrilidir ve tohumun ana protein depolama organı olan kök ve kotiledonlardan oluşur ve proteinli matriks içine yerleştirilmiş lipidlerle birlikte paketlenmiş protein gövdeleri içerir. Endosperm hücreesindeki protein gövdeleri 1,5 ile 2,0 µm çapındadır, parankim embriyo hücrelerinde ise 5 ile 6 µm arasındadır. Perispermde protein, küçük nişasta granülleri arasında bir tortu oluşturur. Perispermde esas olarak tohum ağırlığının yaklaşık %60'ı nişastadan oluşmaktadır (Şekil 11) (Irving *et al.* 1981, NRC 1984, Coimbra ve Salema 1994).



Şekil 11. *A.hypochondriacus* tohumunun taramalı elektron mikroskopunda (a) çapraz ve (b) paradermal kesit görüntüleri (Velarde-Salcedo *et al.* 2019).

Besleyici yenilebilir tohumlar üreten üç ana amarant türü vardır, *A. hypochondriacus*, *A. cruentus* ve *A. caudatus*, hepsi benzersiz ve çekici bir kimyasal bileşime sahiptir (Tablo 1.) ve eşit koşullarla karşılaştırıldığında üstün besin dengesine sahiptir. Tahıllar, baklagiller veya yağlı tohum bitkileri gibi diğer tahıllara temel oluşturur. Bu sebeple, diyet ve spora dayalı sağlıklı bir yaşamla ilgili endişeler sebebiyle gıda olarak amaranta ilgi yoğunlaşmıştır. Amaranth tohumundaki proteinler, proteinlerin %80'inin endospermde bulunduğu mısır ve pirinç gibi tahıllardan farklı olarak esas olarak embriyoda (%65) bulunur (Bressani 1989).

**Tablo 1.** Amaranat tohumlarının yaklaşık bileşimi (Kuru ağırlık bazında yüzde, %) (Velarde-Salcedo *et al.* 2019).

Bileşen	Amarant türleri		
	<i>hypochondriacus</i>	<i>cruentus</i>	<i>caudatus</i>
Ham protein (Toplam %nitrojen × 5.65)	17.9	15.7	18
Yağ	7.7	7.2	7.5
Lif	2.2	4.0	4.5
Kül	4.1	3.3	3.7

Amarant mısır, buğday, sorgum ve farklı pirinç türlerinden daha fazla protein, yağ ve kül içerir ancak nişasta içeriği daha düşüktür (Tablo 2.) (Lee *et al.* 2016, Oko ve Ugwu 2011).

**Tablo 2.** Amaranat ve farklı tahıl tohumlarının yaklaşık bileşimi (Kuru ağırlık bazında yüzde, %) (Velarde-Salcedo *et al.* 2019).

Bileşen	Amarant	Mısır <sup>2</sup>	Buğday <sup>2</sup>	Sorgum <sup>3</sup>	Pirinç <sup>4</sup>
Protein	13,0-18,4	7,1-8,2	10,5-14,5	9,0-12,3	1,9-4,8
Yağ	6,3-8,1	3,5-3,9	1,6-1,9	2,9-3,9	0,6-6,8
Nişasta	60,0-65,0	84,3-86,3	79,0-84,0	68,6-78,6	87,6-94,6
Diyet lifi	2,2-5,8	2,0-2,3	2,5-2,6	1,3-1,7	2,1-2,4

#### 4. SONUÇ

Küresel nüfusun, dünyadaki açlık problemlerini kontrol altına alma ve yeterli beslenme sağlama konusundaki artan ihtiyaçları nedeniyle yabani ot benzeri yapısı ve çevre koşullarına dayanıklı olması gibi sebeplerden dolayı amaranta olan ilgi artmıştır. Dünyadaki mevcut gıda mahsullerinin aksine, tek bir ürün olarak önemli miktarlarda mikro ve makro besin sağlama yeteneğindedir. Amaranat, yeterince kullanılmayan bir gıda olmasına rağmen yalnızca çeşitli stres faktörlerine karşı doğal olarak dirençli olduğu için değil, aynı zamanda dikkate değer nutrasötik özelliklere sahip yüksek besleyici tohumlar ürettiği için alternatif bir mahsul olarak kullanılmalıdır. Amaranat tohumları, insan diyetinin besin gereksinimlerine uyan esansiyel amino asitlere sahip tahıllardan daha fazla protein içerdiği, mineraller ve vitaminler gibi önemli bir mikro besin kaynağı olduğu için kullanımı gittikçe yaygınlaşmaktadır. Biyoaktif peptit kaynağı olan amarantın tohumlarından, kronik hastalıkların önlenmesi için yüksek kaliteli gıda proteinleri kaynağı olması sebebiyle faydalanılmaktadır.

Bu özellikleri sayesinde amarant, günlük diyetinde kullanmak için çeşitli olanaklar sunmaktadır. Ayrıca Amaranat bitkisinin türlerinin ıslah edilmiş ve vahşi türlerinin net olarak sınıflandırılmasının yapılması ve biyoaktif bileşenlerinin tanımlanmasına gereksinim duyulmaktadır.

#### 4. KAYNAKÇA

A.J. Velarde-Salcedo, E. Bojórquez-Velázquez and A.P. Barba de la Rosa (2019). Amaranth. Part III Pseudo Cereal Grains, Whole Food Nutrition. Whole Grains and their Bioactives: Composition and Health, First Edition. Edited by Jodee Johnson and Taylor C. Wallace. 2019 JohnWiley & Sons Ltd. Published 2019 by JohnWiley & Sons Ltd.

Achigan-Dako, E.G., Sogbohossou, O.E.D., and Maundu, P. (2014). Current knowl-edge on Amaranthus spp.: research avenues for improved nutritional value and yield in leafy amaranths in sub-Saharan Africa. Euphytica 197: 303-317.

Adhikary, D. and Pratt, D.B. (2015). Morphologic and taxonomic analysis of the weedy and cultivated *Amaranthus hybridus* species complex. Syst. Bot. 40: 604-610.

Agong, S.G. and Ayiecho, P.O. (1991). The rate of out-crossing in grain amaranths. Plant Breeding 107: 156-160.

Bale, J.R. and Kauffman, C.S. (Editors), 1992. Special issue on grain amaranth: new potential for an old crop. Food Reviews International 8(1): 1-190.

- Barba de la Rosa, A.P. et al. (2009). Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) as an alternative crop for sustainable food production: Phenolic acids and flavonoids with potential impact on its nutraceutical quality. *Journal of Cereal Science*.49:117-121.
- Barba de la Rosa, A.P., Montoya, A.B., Martínez-Cuevas, P. et al. (2010). Tryptic amaranth glutelin digests induce endothelial nitric oxide production through inhibition of ACE: antihypertensive role of amaranth peptides. *Nitric Oxide* 23: 106-111.
- Bond, J.A., Oliver, L.R., and Stephenson, D.O. (2006). Response of palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) accessions to glyphosate, fomesafen, and pyriithiobac. *Weed Technol.* 20: 885-892.
- Brenner, D.M., Baltensperger, D.D., Kulakow, P.A. et al. (2000). Genetic resources and breeding of *Amaranthus*. *Plant Breed. Rev.* 19: 227-285.
- Brenner, D.M., Baltensperger, D.D., Kulakow, P.A., Lehmann, J.W., Myers, R.L., Slabbert, M.M. and Sleugh, B.B. (2000). Genetic resources and breeding of *Amaranthus*. *Plant Breeding Reviews* 19: 227-285.
- Bressani, R. (1989). The proteins of grain amaranth. *Food Rev. Int.* 5: 13-38.
- Coimbra, S. and Salema, R. (1994). *Amaranthus hypochondriacus*: seed structure and localization of seed reserves. *Ann. Bot.* 74: 373-379.
- Costea, M. and Tardif, F.J. (2003). The name of the Amaranth: histories of meaning. *SIDA* 20: 1073-1083.
- Costea, M., Sanders, A. and Waines, G. (2001). Preliminary results toward a revision of the *Amaranthus hybridus* species complex (*Amaranthaceae*). *Sida, Contributions to Botany* 19(4): 931-974.
- de la Olán, M., Espitia-Rangel, E., Ayala-Garay, A.V. et al. (2012). Caracterización morfológica de germoplasma para grano de amaranto (*Amaranthus* spp.). In: *Amaranto Ciencia y Tecnología* (ed. E. Espitia-Rangel), 165-181. Mexico: INIFAP-SINAREFI.
- Délano-Frier, J.P., Martínez-Gallardo, N.A., Martínez-de la Vega, O. et al. (2004). The effect of exogenous jasmonic acid on induced resistance and productivity in amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) is influenced by environmental conditions. *J. Chem. Ecol.* 30: 1001-1034.
- Devadas VS, Gopalakrishnan PK and Peter KV (1984). Breeding for low antinutrient factor in vegetable amaranths. *Amaranth Newsl* 2:2-3.
- Escobedo-López, D., Núñez-Colín, C.A., and Espitia-Rangel, E. (2014). Adaptation of cultivated amaranth (*Amaranthus* spp.) and their wild relatives in Mexico. *J. Crop Improv.* 28: 203-213.
- Espitia-Rangel, E. (1994). Breeding of grain amaranth. In: *Amaranth: Biology, Chemistry, and Technology* (ed. O. Paredes-López), 23-38. Boca Raton: CRC Press.
- Grosz-Heilman, R., Golz, J.T., and Helgeson, D.L. (1990). Amaranth: A Food Crop From the Past for the Future. No 121422, Statistical Series Reports . Fargo: Department of Agribusiness and Applied Economics, North Dakota State University.
- Grubben, G.J.H. (1993). *Amaranthus* L. In: Siemonsma, J.S. & Kasem Piluek (Editors). *Plant Resources of South-East Asia No 8. Vegetables*. Pudoc Scientific Publishers, Wageningen, Netherlands. pp. 82-86.
- Grubben, G.J.H. and Denton, O.A. (2004) *Plant Resources of Tropical Africa 2. Vegetables*. PROTA Foundation, Wageningen; Backhuys, Leiden; CTA, Wageningen.
- Grubben, G.J.H., (1975). La culture de l'amarante, légume-feuilles tropical, avec référence spéciale au Sud-Dahomey. Mededelingen Landbouwhogeschool Wageningen 75-6. Wageningen, Netherlands. 223 pp.
- Irving, D.W., Betschart, A.A., and Saunders, R.M. (1981). Morphological studies on *Amaranthus cruentus*. *J. Food Sci.* 46: 1170-1174.

- Jain, S.K. and Sutarno, H. (1996). *Amaranthus* L. (grain amaranth). In: Grubben, G.J.H. & Partohardjono, S. (Editors). Plant Resources of South-East Asia No 10. Cereals. Backhuys Publishers, Leiden, Netherlands. pp. 75-79.
- Jansen, P. C. M. (2004). *Amaranthus hypochondriacus* L. [Internet] Record from PROTA4U. In Grubben, G. J. H. & Denton, O. A. (Eds.), PROTA (Plant Resources of Tropical Africa/Ressources vegetales de l'Afrique tropicale), Wageningen, Netherlands.
- Jimenez, F.R., Maughan, P.J., Alvarez, A. *et al.* (2013). Assessment of genetic diversity in peruvian amaranth (*Amaranthus caudatus* and *A. hybridus*) germplasm using single nucleotide polymorphism markers. *Crop Sci.* 53: 532-541.
- Kietlinski, K.D., Jimenez, F., Jellen, E.N. *et al.* (2013). Relationships between the weedy *Amaranthus hybridus* (*Amaranthaceae*) and the grain amaranths. *Crop Sci.* 54: 220-228.
- Kietlinski, K.D., Jimenez, F., Jellen, E.N. *et al.* (2013). Relationships between the weedy *Amaranthus hybridus* (*Amaranthaceae*) and the grain amaranths. *Crop Sci.* 54: 220-228.
- Kulakow, P.A. and Hauptli, H. (1994). Genetic characterization of grain amaranth. In: *Amaranth: Biology, Chemistry, and Technology* (ed. O. Paredes-López), 9-22. Boca Raton: CRC Press.
- Kulakow, P.A. and Hauptli, H. (1994). Genetic characterization of grain amaranth. In: *Amaranth: Biology, Chemistry, and Technology* (ed. O. Paredes-López), 9-22. Boca Raton: CRC Press.
- Lee, J., Nam, D.S., and Ch, K. (2016). Variability in nutrient composition of cereal grains from different origins. *SpringerPlus* 5: 419.
- Leung, W.-T.W., Busson, F. and Jardin, C. (1968). Food composition table for use in Africa. FAO, Rome, Italy. 306 pp.
- Liu, L., Herald, T.J., Wang, D. *et al.* (2012). Characterization of sorghum grain and evaluation of sorghum flour in a Chinese egg noodle system. *J. Cereal Sci.* 55: 31-36.
- Lymanskaya, S.V. (2012). Estimation of the genetic variability of an amaranth collection (*Amaranthus* L.) by RAPD analysis. *Cytol. Genet.* 46: 210-216.
- M. Martínez-Núñez, M. Ruiz-Rivas, P.F. Vera-Hernández, R. Bernal-Muñoz, S. Luna-Suárez, F.F. Rosas-Cárdenas. (2019). The phenological growth stages of different amaranth species grown in restricted spaces based in BBCH code. *South African Journal of Botany* 124 (2019) 436–443.
- Maughan, P.J., Smith, S.M., Fairbanks, D.J., and Jellen, E.N. (2011). Development, characterization, and linkage mapping of single nucleotide polymorphisms in the grain amaranths (*Amaranthus* spp.). *Plant Genome* 4: 92-101.
- Maundu, P.M., Ngugi, G.W. and Kabuye, C.H.S. (1999). Traditional food plants of Kenya. Kenya Resource Centre for Indigenous Knowledge (KENRIK), Nairobi, Kenya. 270 pp.
- Montúfar-López, A. (2012). Amaranth (*Amaranthus* spp.) A mesoamerican ritual plant. In: *Amaranto: Ciencia y Tecnología* (ed. E. Espitia-Rangel), 3-13. México: INIFAP/SINAREFI.
- Montúfar-López, A. (2016). Ofrendas de amaranto para los dioses de la lluvia. Tradición mesoamericana. *Arqueol. Mex.* 138: 54-58.
- Morán-Bañuelos, S.H., Cortés-Espinoza, L., Espitia-Rangel, E., and Sangerman-Jarquín, D.M. (2012). Tzoalli, from body of gods to “alegría” of mortals. In: *Amaranto: Ciencia y Tecnología* (ed. E. Espitia-Rangel), 15-27. México: INIFAP/SINAREFI.
- NRC. National Research Council (1984). *Amaranth: Modern Prospects for an Ancient Crop*. Washington, DC.: National Academy Press.
- Oduwaye, O.A., Ojo, D.K., Popoola, A.R. *et al.* (2014). Genetic diversity assessment in amaranth germplasm using AFLP and ISSR markers. *J. Crop Improv.* 28: 518-529.
- Oko, A.O. and Ugwu, S.I. (2011). The proximate and mineral compositions of five major rice varieties in Abakaliki, South-Eastern Nigeria. *Int. J. Plant Physiol. Biochem.* 3: 25-27.

- Pal, M., Ohri, D., and Subrahmanyam, G.V. (2000). A new basic chromosome number for *Amaranthus* (*Amaranthaceae*). *Cytologia* 65: 13-16.
- Park, Y.J., Nishikawa, T., Matsushima, K. *et al.* (2014). A rapid and reliable PCR-restriction fragment length polymorphism (RFLP) marker for the identification of *Amaranthus cruentus* species. *Breed. Sci.* 64: 422-426.
- Parra-Cota, F.I., Peña-Cabriales, J.J., de Los Santos-Villalobos, S. *et al.* (2014). *Burkholderia ambifaria* and *B. caribensis* promote growth and increase yield in grain amaranth (*Amaranthus cruentus* and *A. hypochondriacus*) by improving plant nitrogen uptake. *PLoS One* 12 (9): e88094.
- Pink, A. (2004). *Gardening for the Million*. Project Gutenberg Literary Archive Foundation.
- Rajan, S. and Markose, B.L. (2007). Horticultural science series-6. In *Propagation of Horticultural Crops* (ed. Peter, K. M. V.) (New India Publishing Agency, New Delhi, India, 2007).
- S. Das. (2016). 3.Amaranths: The Crop of Great Prospect. *Amaranthus: A Promising Crop of Future*. Springer. ISBN 978-981-10-1468-0. DOI 10.1007/978-981-10-1469-7.
- Sauer, J.D. (1950). The grain amaranths: a survey of their history and classification. *Ann. Mo. Bot. Gard.* 37: 561-632.
- Sauer, J.D. (1967). The grain amaranths and their relatives: a revised taxonomic and geographic survey. *Ann. Mo. Bot. Gard.* 54: 103-137.
- Slugina, M.A., Torres Minho, K., and Filyushin, M.A. (2014). Analysis of the sequences of internal transcribed spacers ITS1, ITS2 and the 5.8S ribosomal gene of species of the *Amaranthus* genus. *Biol. Bull.* 41: 554-558.
- Sogbohossou, O.E.D. and Achigan-Dako, E.G. (2014). Phenetic differentiation and use-type delimitation in *Amaranthus* spp. from worldwide origins. *Sci. Hortic.* 178: 31-42.
- Suresh, S., Chung, J.W., Cho, G.T. *et al.* (2014). Analysis of molecular genetic diversity and population structure in *Amaranthus* germplasm using SSR markers. *Plant Biosyst.* 148: 635-644.
- Townsend, C.C. (2000). *Amaranthaceae*. In: Edwards, S., Mesfin Tadesse, Demissew Sebsebe and Hedberg, I. (Editors). *Flora of Ethiopia and Eritrea. Volume 2, part 1. Magnoliaceae to Flacourtiaceae*. The National Herbarium, Addis Ababa University, Addis Ababa, Ethiopia and Department of Systematic Botany, Uppsala University, Uppsala, Sweden. pp. 299-335.
- Transue, D.K., Fairbanks, D.J., Robison, L.R., and Andersen, W.R. (1994). Species identification by RAPD analysis of grain amaranth genetic resources. *Crop Sci.* 34: 1385-1389.
- Velarde-Salcedo, A.J., Barrera-Pacheco, A., Lara-González, S. *et al.* (2013). In vitro inhibition of dipeptidyl peptidase IV by peptides derived from the hydrolysis of amaranth (*Amaranthus hypochondriacus* L.) proteins. *Food Chem.* 136: 758-764.
- Ward, S.M., Webster, T.M., and Steckel, L.E. (2013). Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*): a review. *Weed Technol.* 27: 12-27.
- Wassom, J.J. and Tranel, P.J. (2005). Amplified fragment length polymorphism-based genetic relationships among weedy *Amaranthus* species. *J. Hered* 96: 410-416.
- Williams, J.T. and Brenner, D. (1995). Grain amaranths. In: Williams, J.T. (Editor). *Cereals and pseudo-cereals*. Chapman & Hall, London, United Kingdom. pp. 129-185.

**BİR KANGAL KÖPEKĞİNDE DOĞUM SONRASI PROLAPSUS UTERİ OLGUSU**  
**A CASE OF UTERINE PROLAPSE IN A KANGAL BITCH**

**Murat Can DEMİR<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Dr. Öğr. Üyesi, Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Kars, Türkiye.

<sup>1</sup>ORCID ID: 0000-0002-3803-069X

**Muhammet Ali KARADAĞ<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>Arş. Gör. Dr., Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Kars, Türkiye.

<sup>2</sup>ORCID ID: 0000-0002-1791-9588, 0546 939 46 95

**Merve Sena KUMCU<sup>3</sup>**

<sup>3</sup>Arş. Gör., Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Kars, Türkiye.

<sup>3</sup>ORCID ID: 0000-0002-2630-8818

**Mushap KURU<sup>4</sup>**

<sup>4</sup>Doç. Dr., Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Kars, Türkiye.

<sup>4</sup>ORCID ID: 0000-0003-4409-251X

**Semra KAYA<sup>5</sup>**

<sup>5</sup>Doç. Dr., Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Kars, Türkiye.

<sup>5</sup>ORCID ID: 0000-0002-7520-6631

**Cihan KAÇAR<sup>6</sup>**

<sup>6</sup>Prof. Dr., Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Kars, Türkiye.

<sup>6</sup>ORCID ID: 0000-0002-2642-697X

**ÖZET**

Bu olgunun sunumunu Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Sağlığı Eğitim Araştırma ve Uygulama Hastanesine köpeklerde az rastlanan bir durum olan prolapsus uterinin 2 yaşlı Kangal bir köpekte tanımlanması vakası oluşturdu. Köpek, normal bir gebelikten sonra 3 yavru doğurmuş ve doğumdan kısa bir süre sonra vulva dudakları arasından uterusun dışarı çıkması ile özel bir kliniğe götürülüp reddi sağlanmış fakat doku tekrar prolabe olmuştur. Postpartum 10. gününde hastanemize gelen hastada klinik muayene bulgularına dayanılarak tam prolapsus tanımı konulmuştur. Prolabe olan kısım ödemli, solgun ve nekrotik alanlara sahipti. Köpeğin genel durumu iyiydi. Tedavi amacıyla ilk öncelikle uterus antiseptik solüsyonla yıkandı, soğuk uygulama ile prolabe olan kitlenin ödemi azaltıldı ve ardından elle hafifçe itildi ve uterus kitlesi pelvik kaviteye yeniden yerleştirildi ve ardından ovariyohisterektomi operasyonu yapıldı. Laparotomi sırasında her iki kornu uterinin korpus ve serviks uterinine içine invagine olduğu tespit edildi. Operasyon sonrası profilaktik amaçlı sefazolin (İespor<sup>®</sup>, 2 mg/kg, İM, 5 gün) ve meloksikam (Maxicam<sup>®</sup>, 0,2 mg/kg, S.C, tek doz) uygulandı. Postoperatif süreçte takip edilen hastanın genel durumunun iyi olduğu ve klinik bulguların tekrarlanmadığı belirlendi. Sonuç

olarak, tam prolabe uterus vakasının bir Kangal köpeğinde gerçekleştirilen cerrahi girişim, başarılı bir tedavi seçeneği olarak değerlendirilebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Köpek, Kangal, prolapsus, uteri, postpartum

## ABSTRACT

In this case, a rare uterine prolapse of a 2-year-old Kangal bitch brought to Kafkas University Veterinary Faculty Animal Health Education Research and Practice Hospital was described. The uterus protruded from the vulva of the bitch that gave birth to 3 puppies a short time later. The bitch was immediately taken to the veterinary clinic and the uterus was rejected, but the uterus prolapsed again at the end of the same day. The bitch, which was not treated again until the postpartum 10th day, was brought to our clinic. Uterine prolapse was diagnosed after anamnesis and clinical examination. The prolapsed part was edematous, pale, and necrotic, but the bitch's general condition was good. For treatment, first of all, the uterus was washed with an antiseptic solution, and the edema of the prolapsed mass was reduced with cold compresses. It was then manually rejected, and the uterus was placed in the pelvic region and an ovariohysterectomy was performed. During laparotomy, both cornu uteri were found to be invaginated into the corpus and cervix uteri. Cefazolin (2 mg/kg, IM, 5 days) and meloxicam (0.2 mg/kg, SC, single dose) were injected after ovariohysterectomy. Hemogram/biochemistry measurement was performed in the postoperative period and there were no complications. As a result, uterine prolapse can be considered as a successful treatment option with surgical intervention in a Kangal bitch.

**Key words:** Bitch, Kangal, postpartum, prolapse, uterus

## 1.GİRİŞ

Tam veya kısmi prolapsus uteri, kedilerde daha sık görülmesine rağmen köpeklerde nadir görülen klinik bir durumdur (Mimouni 1992; Biddle ve Macintire 2000; Davidson 2003). Diğer hayvanlarla karşılaştırıldığı zaman köpeklerde prolapsus uterinin insidansı <math><0,03</math> oranındadır. Doğumdan sonraki 48 saate kadar serviks açık durumdayken kornu uterilerden birinin veya her ikisinin vulva yoluyla açığa çıkmasıyla gerçekleşir ve genellikle bir obstetrik acil durumu temsil eder (Wood 1986). Prolapsus uterinin nedenleri arasında güç doğum, uzamış doğum süresi, absolüt yavru büyüklüğü, çoğul gebelikler, uterus ligamentlerinin gevşekliği, aşırı abdominal kasılmalar, uterus atonisi ve retensiyon sekondinarum sayılabilir (Wood 1986, Öcal 2001). Prolapsus uteri vakalarında uterusun kısımları vajinal açıklığa doğru çıkıntı yapar. Uterusun kısımları vulvada değişken boyutlarda görünebilir. Köpeklerde uterusun anatomik yapısı “Y” şeklindedir ve iki kornuya sahiptir, bir ya da iki kornu vajinadan dışarıya sarkabilir. Tek kornunun prolabe olması kısmi, her iki kornunun prolabe olması ise tam prolapsus olarak adlandırılır (White 2004).

Prolapsus uteri ilk gebelikte görülebilir, fakat büyük olasılıkla bir köpeğin doğum komplikasyonları olsun ya da olmasın birkaç kez doğum yaptıktan sonra görülür (Wood, 1986). Klinik belirtilerin şiddeti ve prognoz, prolapsusun süresine ve uterus damarlarının rüptürü nedeniyle kanama oluşmasına bağlıdır. Prolapsus süreci genellikle ovaryum damarlarında ruptur şekillenerek hemoperitoneum ile sonuçlanır (White 2004). Bu nedenle, vulvada çıkıntı yapan kitle dışında önemli bir belirti göstermeyebilir veya daha sonra klinik belirti olarak dehidrasyon, hipotermi ve şok belirtileri gösterebilir. Tedavi yönteminin seçiminde belirleyici faktör, dişi köpekten gelecekte yavru istenip istenmemesi durumudur (Ağaoğlu ve ark., 2012). Prolapsus uteri için en uygun terapötik yaklaşım, özellikle bir kornusu tamamen prolabe olduğunda cerrahi girişimdir (Payan-Carreira ve ark., 2012). Genel olarak prolabe olan dokularda inflamasyon, nekroz veya purulent akıntı gibi bulgular görülebilir. Böyle bir durumda uterusun manuel olarak küçültülmesi ve reddedilmesi mümkün değildir. Uterus dokusunda herhangi bir patolojik durum yoksa, sarkan dokuyu geri yerleştirmek için red denenir, fakat erken davranılmalıdır. Red yerine ovariohisterektomi ile tedavi etmek genellikle daha radikal bir çözümdür. (Hedlund 2007).

Prolapsus uterinin tekrarı nadiren görülür (Maxson ve Krausnick 1969; Wallace ve ark. 1970). Postoperatif komplikasyonlar içinde kanama, şok, enfeksiyon, peritonit ve üretral obstrüksiyon veya nekrozu ile karşılaşılabılır (Hardie 1985). Hastalar şok, disüri, ıkınma veya uyuşukluk belirtileri

açısından yakından takip edilmelidir. Prolapsus uteri için ayırıcı tanıları arasında vajinal, uterin ve üretral neoplazmalar, metritis, retensiyo sekundinarum ve prolapsus vagina yer almaktadır.

Bu olgu sunumunda, bir kangal köpekte prolapsus uterinin postpartum 10. gününde yapılan operatif tedavi ve sonuçlarının değerlendirilmesi amaçlandı.

## 2.OLGUNUN TANIMI

İki yaşındaki Kangal melezi bir köpek, üç sağlıklı yavrunun doğumunun ardından, vulvadan büyük, kırmızımsı bir kitlenin akut olarak ortaya çıkması nedeniyle özel bir kliniğe götürülüp reddi sağlanmış fakat doku tekrar prolabe olmuştur. Sonrasında köpek postpartum 10. günde Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Sağlığı Eğitim Araştırma ve Uygulama Hastanesine getirilerek klinik muayenesi yapıldı. Köpek normal vücut kondisyonuna sahipti ve vücut sıcaklığı, nabız, solunum hızı referans aralığındaydı. Ayrıca geçirdiği gebelik süresi boyunca da herhangi bir olumsuz durum ile karşılaşmadığı belirtildi.

Vulvadan çıkıntı yapan doku silindirik şekilde bir çift kornu uteri içeriyordu (Şekil 1). Prolabe olan uterus ödemli, konjestif, yüzeyinde bazı nekroz alanları vardı, fakat dış kanama bulgusu yoktu. Eksternal üretral açıklık normal görünümündeydi, disüri veya strangüri durumu ile karşılaşmadı. Abdominal palpasyon ve ultrasonografik muayenede yavruların varlığı ile karşılaşmadı. Klinik muayene bulgularına dayanılarak tam prolapsus tanını konuldu.



**Şekil 1:** Prolapsus uteri görünümü. Sağ: Sağ kornu uteri, Sol: Sol kornu uteri, N: Nekrotik alan.

Köpeğin genel durumu ve iç kanama bulgusu olmaması göz önünde bulundurularak, tedavi amacıyla ilk öncelikle uterus antiseptikli solüsyonla yıkandı, prolabe olan kitlenin boyutunun küçülmesi için topikal olarak uygulanan hiperozmotik solüsyonlar ile prolabe olan kitlenin ödemi azaltıldı. Uterus damarının yırtılmasına ve ardından gelen iç kanamaya neden olma olasılığına dikkat edilerek elle prolabe olan kitle hafifçe itildi ve uterus pelvik kaviteye yeniden yerleştirildi. Ardından prolabe olan kısımda nekroz alanları görüldüğü için ovaryohistektomi operasyonuna karar verildi.

Cerrahi tedavi için atropin (Vetaş<sup>®</sup>, 0,05 mg/kg, SC) ve ksilazin hidroklorür (Rompun<sup>®</sup>, 2 mg/kg, IM) kullanılarak premedikasyon sağlandı. Ketamin hidroklorür (Ketasol<sup>®</sup>, 10 mg/kg, IM) ile genel anestezi indüklendi. Ovaryohistektomi operasyonu, abdomenden traksiyon ve vulvadan eksternal manipülasyon kombinasyonu ile uterusun yeniden konumlandırılmasından sonra gerçekleştirildi. Ameliyat sırasında her iki kornu uteri, corpus uteri ve serviks uteri içine invajinasyona uğradığı görüldü. Rutin ovariohistektomi ve karın duvarı kapatılmasını takiben tek doz meloksikam (Maxicam<sup>®</sup>, 0,2 mg/kg, S.C, tek doz) uygulandı. Operasyon sonrası profilaktik amaçlı sefazolin (İespor<sup>®</sup>, 2 mg/kg, İM,



5 gün) uygulandı. Postoperatif süreçte takip edilen hastanın genel durumunun iyi olduğu ve klinik bulguların tekrarlanmadığı belirlendi.

Postoperatif değerlendirme için 2 ve 7 gün sonra kontrol için randevu verildi. Postoperatif 2. günde tam iyileşme sağlandı. Ameliyattan 10 gün sonra deri dikişleri alındı.

### 3. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu vaka raporu, orta boy bir dişi köpekte yardım olmaksızın normal doğum yaptığı fakat doğum sonrası nadiren görülen prolapsus uteri olgusu anlatmaktadır.

Prolapsus uteri, kornuların birinin veya her ikisinin serviks ve vajina yoluyla invajinasyonudur (Wood 1986, Darvelid ve Linde-Forsberg 1994). Prolapsus uteri ayrıca bir fetüsün dışarı çıkması ve fetal boyuttan dolayı maternal distosi ile ilişkili olarak ortaya çıkabilir. Kısmi veya tam prolapsus uteri, köpeklerde kediye göre nispeten daha az yaygındır. İsveç'te 182 köpek distosi vakası incelendiğinde prolapsus uteri saptanmamıştır (Darvelid ve Linde-Forsberg 1994). Ancak kedilerin 155 distosi vakasında prolapsus uteri oranı %0,6 bulunmuştur (Ekstrand ve Linde-Forsberg 1994).

Distosi, aşırı ıkmama ile ilişkilidir ve absolüt yavru büyüklüğü sıklıkla prolapsus uterinin nedensel faktörleridir. Bununla birlikte, prolapsus uterinin nedenleri henüz net değildir. Literatürde prolapsus uterus ve vajinanın en çok belirtilen nedenleri arasında hormonal dengesizlik (progesteron/östrojen), tenesmusu bağlı artmış abdominal gerginlik, uygun olmayan obstetrik teknik ve uterus rüptürü yer almaktadır (Alan ve ark. 2007, Hedlund 2007, Payan-Carreira ve ark. 2011).

Dişi köpeklerde prolapsus uteri insidansı ile belirli bir yaş ve cins yatkınlığı kaydedilmemiştir. Johnson (1989), farklı yaş ve cins köpeklerde ve primipar veya multipar dişilerde uterus prolapsusunun meydana geldiğini bildirmiştir.

Prolabe olan dokunun teşhisi zor değildir çünkü vulvada çıkıntılı bir kitlenin varlığını kolayca algılanır ve bu genellikle kliniğe başvurmak için ana şikayettir. Prolabe yapının uzantısının ve son doğum öyküsünün dikkatli bir şekilde değerlendirilmesi, hangi dokunun prolabe olduğunun adlandırılmasına olanak sağlar. Prolapsus vagina en sık doğumdan önce olurken, prolapsus uteri doğuma eşlik eder veya sonrasında görülür (Payan-Carreira ve ark 2012). Prolapsus uteri durumunda; önceki doğum geçmişi, vajinal akıntının varlığına, tenesmusun yoğunluğuna ve sıklığına, huzursuzluğa ve vulvadaki prolabe olan kitleye dikkat edilmelidir. Dijital palpasyon ve vajinoskopi kesin tanıya yardımcı olur (Agaoglu ve ark. 2012).

Başarılı bir tedavi için erken ve doğru teşhis önemlidir, çünkü prolapsus uteri karın boşluğuna şiddetli kanama durumunda yaşamı tehdit eden bir durum oluşturabilir. Prolobe kitle, gerçek prolapsus vagina veya vajinal/uterin neoplazmdan ayırt edilmelidir. Kitle, yırtılma ve olası kanama açısından iyice incelenmelidir (Payan-Carreira ve ark., 2012). Uterus dokusu sarkmanın süresine bağlı olarak iskemik veya nekrotik alanlar şekillenebilir. Klinik belirtiler büyük ölçüde sarkmanın derecesine veya yırtılmanın boyutuna, kanamanın varlığına, karın boşluğunun uterus ve fetal sıvılarla kontaminasyonuna veya fetüsün uterusta kalmasına bağlıdır (Hedlund 2007).

Prolapsus uteri için en uygun terapötik yaklaşım, özellikle bir kornu uteri tamamen dışa dönükse cerrahi operasyondur. Uterusun reddi mümkün olduğunda bile, tıbbi tedaviden sonra uterus fonksiyonu geri kazanılabilirse bile, şiddetli ligament gerilmesinden sonra uterusu yeterli askı desteği elde edilemeyeceğinden, yaklaşan bir gebeliği sağlıklı sürdürme yeteneği sağlanmaz. Prolapsus uteride, kan damarlarının rüptürü ve bunun sonucunda hayvanı hipovolemik şoka yatkınlaştıran intraabdominal kanama ile ilişkili olup olmadığının vurgulanması önemlidir (Biddle ve Macintire 2000; Hedlund 2007).

Sonuç olarak, kliniğimize getirilen köpeğin prolapsus uteri oluşma anı üzerinden uzun zaman geçmiştir. Prolapsus uterinin gerçekleştiği zamana bağlı olarak dokuda nekrotik ve enfekte alanlar tespit edilmiştir. Bu gibi durumlarda uterusun yeniden konumlandırılması yapılmadığından en uygun tedavi yaklaşımı cerrahi operasyon olmuştur. Operatif girişim sonrasında da herhangi bir komplikasyonla karşılaşmamıştır.

#### 4. KAYNAKÇA

- Ağaoğlu A.R., Kocamüftüoğlu M., Çetin Y., Çelik M.T. (2012). Pointer ırkı bir köpekte prolapsus uteri. *Eurasian J Vet Sci*, 28, 3, 182-184.
- Alan M., Cetin Y., Sendag S., Eski F. (2007). True vaginal prolapse in a bitch. *Anim Rep Sci*, 100, 411-414.
- Biddle D., Macintire D.K. (2000). Obstetrical emergencies. *Clin Tech Small Anim Pract* 15, 88-93.
- Darvelid A.W., Linde-Forsberg C. (1994). Dystocia in the bitch: A retrospective study of 182 cases. *J Small Anim Pract*, 35, 402-407.
- Davidson A. (2003). Disorders of puerperium and lactation. In: Esavs A, Apel A-RG, (eds), *Small Animals Reproduction II*, Vol. 2. ESAVS – European School of Advanced Veterinary Studies, Hannover, Germany (School of Vet Medicine), 14.11-14.16.
- Ekstrand C., Linde-Forsberg C. (1994). Dystocia in the cat: A retrospective study of 155 cases. *J Small Anim Pract*, 35, 459-464.
- Hardie E.M. (1985) Selected surgeries of the male and female reproductive tracts. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 14(1): 109-122.
- Hedlund C.S. (2007). Surgery of the reproductive and genital systems. In: *Small Animal Surgery*, 3rd edition, Eds; Fossum T.W., Hedlund C.S., Johnson A.L., Schulz K.S., Seim H.B., Willard M.D., Bahr A., Carroll G.L., Elsevier Mosby, St. Louis, Missouri, 702-774.
- Maxson F.B., Krausnick K.E. (1969). Dystocia with uterine prolapse in a Siamese cat. *Vet Med Small Anim Clin*, 64: 1065.
- Mimouni P. (1992). Pathologie du postpartum. In: Fontbonne A, Dumon C. (eds), *Les indispensables de l'animal de compagnie – Re'production du Chien et du Chat*. Ed. P.M.C.A.C, Paris, France, 131-143.
- Öcal H. (2001). Prolapsus uteri. In: *Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite*, Ed; Alaçam E. *Medisan Yayın Serisi*:40, Ankara, 231-236.
- Payan-Carreira R., Albuquerque C., Abreu H., Maltez L. (2012). Uterine prolapse with associated rupture in a Podengo Bitch. *Reprod Domest Anim*, 57: 51-55.
- Wallace L.J., Henry J.D., Clifford J.H. (1970). Manual reduction of uterine prolapse in a domestic cat. *Vet Med Small Anim Clin*, 65: 595.
- White R.N. (2004). Surgery of the genital tract. In: *BSAVA Manual of Small Animal Reproduction and Neonatology*, Ed; Simpson GM, British Small Animal Veterinary Association, UK, 187.
- Wood D.S. (1986). Canine uterine prolapse. In: *Morrow D.A. (ed.), Current Therapy in Theriogenology: Diagnosis, Treatment, and Prevention of Reproductive Diseases in Small & Large Animals*, 2nd edn. W. B. Saunders, Philadelphia, 510-511.

**THE EFFECT OF BREED AND TEMPERAMENT FACTORS ON SOME BEHAVIORAL  
TRAITS IN MALE LAMBS**

**ERKEK KUZULARDA BAZI DAVRANIŞ ÖZELLİKLERİNE IRK VE MİZAÇ  
FAKTÖRLERİNİN ETKİSİ**

**Buket BAYIR<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Ondokuz Mayıs University, Veterinary Faculty, Department of Animal Breeding and Husbandry,  
Samsun, Türkiye*

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9318-9281>

**Akif UYSAL<sup>2</sup>**

<sup>2</sup> *Ondokuz Mayıs University, Veterinary Faculty, Department of Animal Breeding and Husbandry,  
Samsun, Türkiye*

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7427-5416>

**Deniz AY<sup>3</sup>**

<sup>3</sup> *Ondokuz Mayıs University, Veterinary Faculty, Department of Animal Breeding and Husbandry,  
Samsun, Türkiye*

<sup>3</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6524-5231>

**Filiz AKDAĞ<sup>4</sup>**

<sup>4</sup> *Ondokuz Mayıs University, Veterinary Faculty, Department of Animal Breeding and  
Husbandry, Samsun, Türkiye.*

<sup>4</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9142-9731>

**ABSTRACT**

This research was carried out to determine the effects of breed and temperament factors on some behavioral characteristics of male lambs. In the study, weaned male lambs a total of 47 at the age of 3 months in Akkaraman, Karayaka and Herik breeds were used. Lambs of each genotype were applied to flight time test at the beginning of the study to determine their temperament, and then each genotype was placed in different compartments allocated to them. The behavior of each animal was recorded by using a digital camera on the first day, 1st and 2nd months of the study, for 30 minutes daily, for a total of 90 minutes. The behaviors of standing, feeding, drinking, lying down and walking were analyzed from the behavioral records. One-way analysis of variance was used to determine the effect of the breed factor on these behavioral traits, and the independent t test was used to determine the effect of temperament. In the study, it was determined that the effect of the breed factor on all behavioral traits of male lambs except lying down behavior was significant ( $P<0.05$ ). In addition, it was determined that the temperament factor was only effective ( $P<0.05$ ) on the behavior of feeding in examined behavioral traits.

**Keywords:** flight time test, karayaka, lying down behavior.

**1. INTRODUCTION**

Behavior is defined as the response of living things to situations that arise as a result of their interaction with each other and to special situations (Akbaş, 2013). Animal behavior is an important factor for the determination of animal welfare and productivity level. Many behavioral traits of animals such as feeding, drinking, lying down are determined by many factors such as breed, gender, age and temperament (Arslan, 2007; Dodd et al., 2012). Temperament literally means as the way of responding

to psychological and physiological stress (Hough et al., 2013). Temperament is considered as a result of genetic traits of animals and the environmental experiences in the early period of their life. The temperament of farm animals is not affected by time. Changes occur only in the way they react to their physiological state and temporary environmental conditions (Dodd et al., 2012; Rice et al., 2016).

This research was carried out to determine the effects of breed and temperament factors on some behavioral traits in male lambs of different genotypes.

## 2. MATERIALS AND METHODS

This research was carried out on 47 male lambs of Akkaraman, Karayaka and Herik breeds having aged approximately 3 months in Samsun province. In this study, weaned male lambs in the same age in Akkaraman, Karayaka and Herik breeds were selected and then numbered with ear tags and animal spray paint. Following the identification, flight time test was applied to lambs of each genotype. The flight time test was applied according to the method stated by Brown et al. (2016).

After the flight time test was applied, each genotype was placed in separate groups and their behavior was recorded using a digital camera at equal intervals for a period of about 2 months. In order to determine the behavioral traits, recordings were made on very next day to the flight time test, 1st and 2nd months of the study, for 30 minutes daily.

The mean flight time test value was 2.35 seconds and lambs were grouped according to the temperament time provided by this test. Lambs with flight time below the mean value were defined as nervous (n=27), and those with flight time above the mean value were defined as calm(n=20) temperament. In the analysis of the behavioral records, the standing, feeding, drinking, lying down and walking behavior time of each lamb was determined. In this study, analysis of variance was used to determine the effect of breed and time on some behavioral traits. In addition, the student t test was used to determine the effect of temperament on behavioral traits. Statistical calculations were performed using the SPSS program package.

## 3. RESULTS AND DISCUSSION

In this research, the comparison of some behavioral traits followed in male lambs according to breed and time factors is given in Table 1.

**Table 1.** Comparison of various behavioral traits in lambs according to breed and time (sec.) factors (mean  $\pm$  S.E).

Traits	Standing	Feeding	Lying Down	Walking	Drinking
Breed	**	*	-	*	*
Akkaraman	104.95 $\pm$ 18.16a	641.14 $\pm$ 39.28a b	123.08 $\pm$ 33.47	27.47 $\pm$ 3.44a	9.65 $\pm$ 2.15ab
Karayaka	22.68 $\pm$ 17.96b	672.41 $\pm$ 38.44a	161.02 $\pm$ 33.11	32.04 $\pm$ 3.40a	11.83 $\pm$ 2.13a
Herik	124.35 $\pm$ 17.96a	543.02 $\pm$ 38.44b	212.20 $\pm$ 33.11	15.68 $\pm$ 3.40b	4.73 $\pm$ 2.13b
Time	-	*	*	*	*
Day 1	62.68 $\pm$ 17.94	533.97 $\pm$ 38.86b	273.16 $\pm$ 33.11a	30.68 $\pm$ 3.40a	5.79 $\pm$ 2.13b
Month 1	100.22 $\pm$ 17.96	604.35 $\pm$ 38.44b	169.70 $\pm$ 33.11b	19.18 $\pm$ 3.40b	6.52 $\pm$ 2.13b
Month 2	89.07 $\pm$ 18.05	718.25 $\pm$ 38.86a	53.44 $\pm$ 33.47c	25.32 $\pm$ 3.44ab	13.90 $\pm$ 2.15a

\*P<0.05; \*\*P<0.01; - : P>0.05

In this study, it was determined that the effect of the breed factor in male lambs was significant except for lying down behavior (P<0.05). It was determined that the time factor was significant on all behaviors except for standing (P<0.05).

Comparison of some behavioral traits of nervous and calm temperament lambs is given in Table 2. When behavioral traits of Akkaraman, Karaya and Herik male lambs were compared according to their temperament, it was determined that temperament was only significant on feeding behavior (P<0.05).

**Table 2.** Comparison of some behavioral traits according to temperament of lambs (Mean  $\pm$ SE).

Traits	Nervous	Calm	Significant
Standing time (sec.)	70.12 $\pm$ 14.40	100.84 $\pm$ 16.93	-
Feeding time (sec.)	650.13 $\pm$ 29.18	568.87 $\pm$ 38.02	*
Lying down (sec.)	144.42 $\pm$ 26.63	194.00 $\pm$ 31.95	-
Walking time (sec.)	25.26 $\pm$ 2.71	24.80 $\pm$ 3.35	-
Drinking time (sec.)	10.05 $\pm$ 1.88	6.95 $\pm$ 1.61	-

\*P<0.05; - : P>0.05

As per flight test time, it was determined that the feeding time of lambs having nervous temperaments was longer than those with calm temperament (P<0.05). Pajor et al., (2008) in their study reported that the breed factor was effective on behaviors in Hungarian Merino, German Merino and German Blackhead lambs. In the same study, it was reported that German Blackhead lambs had a calm temperament than Hungarian Merinos.

#### 4. CONCLUSION

As a result of this research, it was determined that the breed factor was effective on the feeding, drinking, standing and walking behaviors of male lambs. In addition, it has been determined that the temperament of the lambs affects the feeding time. The findings obtained as a result of this research led to the idea that as a consequence of on the change in the basic behavior of animals such as feeding and movement may also affect the yield traits such as growth and fattening performance.

It has been concluded that, the yield traits of lambs having different temperaments may change according to the change in feeding time. However, it would be useful to carry out more comprehensive studies in order to enlighten these ideas.

#### 5. REFERENCES

- Akbaş, A. (2013). Çiftlik hayvanlarında davranış ve refah ilişkisi. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 1(1), 42-49.
- Arslan, C. (2007). Koyun ve keçilerde beslenme davranışları. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 33(3), 77-88.
- Brown, D. J., Fogarty, N. M., Iker, C. L., Ferguson, D. M., Blache, D., & Gaunt, G. M. (2016). Genetic evaluation of maternal behaviour and temperament in Australian sheep. *Animal Production Science*, 56 (4), 767-774
- Dodd, C. L., Pitchford, W. S., Hocking Edwards, J. E. & Hazel, S. J. (2012). Measures of behavioural reactivity and their relationships with production traits in sheep: A review. *Applied Animal Behaviour Science*, 140 (1-2): 1-15.
- Hough, D., Swart, P. & Cloete, S. (2013). Exploration of the hypothalamic-pituitary- adrenal axis to improve animal welfare by means of genetic selection: lessons from the South African Merino. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, 3 (2): 442-74.
- Pajor, F., Szentleleki, A., Laczo, E., Tozser, J. & Poti, P. (2008). The effect of temperament on weight gain of Hungarian Merino, German Merino and German Blackhead lambs. *Archives Animal Breeding*, 51(3), 247-254.
- Rice, M., Jongman, E. C., Butler, K. L., & Hemsworth, P. H. (2016). Relationships between temperament, feeding behaviour, social interactions, and stress in lambs adapting to a feedlot environment. *Applied Animal Behaviour Science*, 183, 42-50.

**THE RELATIONSHIP BETWEEN LIVE WEIGHT AND TAIL MEASUREMENTS IN  
AKKARAMAN, KARAYAKA AND HERİK LAMBS FED A HIGH FORAGE AND  
CONCENTRATE DIET**

**KABA VE KONSANTRE YEM AĞIRLIKLİ BESLENEN AKKARAMAN, KARAYAKA VE  
HERİK KUZULARINDA CANLI AĞIRLIK VE KUYRUK ÖLÇÜLERİ ARASINDAKİ  
İLİŞKİ**

**Buket BAYIR<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Ondokuz Mayıs University, Veterinary Faculty, Department of Animal Breeding and Husbandry,  
Samsun, Türkiye

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9318-9281>

**Mustafa UĞURLU<sup>2</sup>**

<sup>2</sup> Ondokuz Mayıs University, Veterinary Faculty, Department of Animal Breeding and Husbandry,  
Samsun, Türkiye

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6464-0371>

**Akif UYSAL<sup>3</sup>**

<sup>3</sup> Ondokuz Mayıs University, Veterinary Faculty, Department of Animal Breeding and Husbandry,  
Samsun, Türkiye

<sup>3</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7427-5416>

**Deniz AY<sup>4</sup>**

<sup>4</sup> Ondokuz Mayıs University, Veterinary Faculty, Department of Animal Breeding and Husbandry,  
Samsun, Türkiye

<sup>4</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6524-5231>

**Furkan ATALAR<sup>5</sup>**

<sup>5</sup> Ondokuz Mayıs University, Veterinary Faculty, Department of Animal Breeding and Husbandry,  
Samsun, Türkiye

<sup>5</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6694-4923>

**Filiz AKDAĞ<sup>6</sup>**

<sup>6</sup> Ondokuz Mayıs University, Veterinary Faculty, Department of Animal Breeding and Husbandry,  
Samsun, Türkiye

<sup>6</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9142-9731>

**Bülent TEKE<sup>7</sup>**

<sup>7</sup> Ondokuz Mayıs University, Veterinary Faculty, Department of Animal Breeding and Husbandry,  
Samsun, Türkiye

<sup>7</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1091-643X>

**ABSTRACT**

This study was carried out to determine the effect of breed and diet on tail measurements of 48 lambs (2 diets X 3 breeds X 8 samples) from three different breeds (Akkaraman, Karayaka, Herik) fed with

two different diets (70% concentrate + 30% forage and 70% forage + 30% concentrate) during growth period. In the study, live weight and tail measurements were taken from the lambs weaned in two and a half months on the 75th, 105th, 135th and 165th days. The difference in live weight values between breeds on the 105 th, 135 th and 165 th days of the lambs, was not significant ( $P>0.05$ ). In all measurements, it was determined that the effect of breed on the upper tail width and upper tail circumference values was significant. The upper tail circumference was 50.42, 28.84 and 46.69 cm, respectively and the value was lower in Karayaka than the other two breeds ( $P<0.001$ ). The upper tail depth was 47.23, 39.00 and 57.17 mm, respectively and the value was higher in Herik than the other two breeds ( $P<0.001$ ). It was determined that there was the highest correlation between live weight value and upper tail width in tail measurements in all three breeds. It was determined that this relationship increased from the 75th day to the 165th day in general in all three breeds, the highest linear correlation was found on the 165th day ( $r=0.864$ ;  $P<0.01$ ) in the Herik breed. In conclusion, it was determined that the effect of breed on live weight were insignificant in the measurements made on the 105th, 135th and 165th days. It was determined that the effect of breed on most of the tail measurements taken throughout the research is significant. It was determined that the effect of diet on upper tail width, upper tail circumference and upper tail depth was significant. It was determined that the highest correlation relationship was between live weight and upper tail width in Akkaraman, Karayaka and Herik lambs.

**Keywords:** akkaraman, karayaka, herik, diet, breed, tail measurements.

## 1. INTRODUCTION

Sheep breeding is an essential source of animal husbandry, generally in areas with wide grasslands pastures and arid climate conditions. It is a primary economic activity for people living in rural areas. In Africa, the Middle East, and Asia, fat-tailed breeds constitute a significant part of the total sheep population. Similarly, 90-95% of the sheep population in Turkey consists of fat-tailed breeds, and almost half of this is the Akkaraman breed. The Akkaraman breed's "S" shaped curved tail structure is a breed characteristic. Karayaka is a sheep breed that can be classified as a mid-fat-tailed or thin-tailed sheep breed and is bred at a significant level in the Black Sea Region. The tail of the karayaka breed is relatively long, and thin and the fat mass is located at the upper of the tail. Herik sheep, which was obtained due to of crossbreeding Akkaraman and Karayaka breeds, is a fat-tailed sheep bred near the Black Sea coast (Akcapinar, H and Ozbeyaz, C., 1999; Akcapinar, 2000; Kashan et al., 2005).

From the birth of the lamb until it reaches the mature live weight, different growth forms are seen in the different tissues of its body. In general, by taking the head, body, and tail measurements, it can be determined whether the growth takes place at an optimal level according to the breed and age. Among these measures, the relationship between tail measurements and live weight during growth has been studied in various countries and sheep breeds (Vatankhah and Talebi, 2008). In addition, very few studies investigate the relationship between tail measurements and live weight in sheep breeds in Turkey. This study was carried out to determine that the effect of breed and diet on tail measurements during growth of 48 lambs (2 diets X 3 breeds X 8 samples) from three different breeds (Akkaraman, Karayaka, Herik) fed with two different diets (70% concentrate + 30% forage and 70% forage + 30% concentrate).

## 2. MATERIALS AND METHODS

This study was carried out at Ondokuz Mayıs University, Faculty of Agriculture, Research and Application Farm, and the study started in April 2022. In this research, were used three different weaned breeds three different weaned breeds used (Akkaraman, Karayaka and Herik) with an age of approximately 75 days and a body weight of 20 kg. 16 male lambs from the same flock of each breed were selected and randomly divided into two different feeding groups, each consisting of 8 lambs. Thus, a total of 48 lambs, 2 diets X 3 breeds X 8 samples, were used in the study. Before fattening, lambs were applied antiparasitic drugs and vaccinated against clostridial diseases. After the diet adaptation period, the lambs were fattened with two different diets (70% concentrate + 30% forage and 70% forage + 30% concentrate). Lambs were weighed weekly after 12 hours of fasting and their live weights were recorded. Adlibitum water was provided to the lambs during the fattening period. In addition, the upper tail width and upper tail circumference of lambs at 75th, 105th, 135th and 165th days of age was measured with a

measuring tape and were recorded. The upper tail depth was measured with a caliper and recorded on the same days.

In the study, the data of live weight, upper tail width, upper tail circumference and upper tail depth of lambs were analyzed with t-test for two different diets and with one-way ANOVA test for three different breeds. Live weight values and upper tail width, upper tail circumference and upper tail depth values of lambs at the 75th, 105th, 135th, and 165th days of age were analyzed by the Pearson correlation test.

### 3. RESULTS

Average values and standard errors of live weight and some tail measurements according to breed and diet groups of lambs on 75., 105., 135. and 165. days are given in Tables 1, 2, 3 and 4. It was determined that the effect of the diet on the examined traits was insignificant on the 75th and 105th days ( $P < 0.05$ ), but the effect of the diet on the 135th and 165th days was significant at different levels. It was determined that the effect of the breed was generally significant throughout the study and the significance level increased ( $P < 0.001$ ) especially on the 135th and 165th days. The correlation relationship between some tail measurements and live weights of Akkaraman, Karayaka and Herik lambs on the 75th, 105th, 135th, and 165th days are given in Tables 5 and 6. It was determined that the highest correlation relationship in Herik breeds was between live weight and upper tail width.

**Table 1.** Average values and standard errors of live weight and some tail measurements on 75th day by breed and diet groups.

Body Measurements	Diet (D)		Breed (B)			Significant	
	Roughage	Concentrate Diet	Akkaraman	Karayaka	Herik	D	B
Live Weight	19.94±0.36	19.67±0.46	19.99±0.39	19.14±0.63	20.28±0.45	NS	NS
Upper tail Width (cm)	23.50±1.49	34.56±12.81	22.56±1.23 <sup>a</sup>	11.21±1.01 <sup>b</sup>	27.84±6.44 <sup>a</sup>	NS	**
Upper tail Circumference (cm)	36.13±1.36	35.19±1.62	32.41±1.81 <sup>a</sup>	19.41±0.62 <sup>b</sup>	34.91±0.79 <sup>a</sup>	NS	***
Upper tail Depth (mm)	32.42±1.67	32.61±2.17	27.80±1.71 <sup>b</sup>	32.00±2.56 <sup>ab</sup>	37.75±2.11 <sup>a</sup>	NS	**

NS: Not Significant ( $P > 0.05$ )

a, b, c means values in the same row with different letters differ significantly ( $P < 0.05$ ).

\*\* $P < 0.01$

\*\*\* $P < 0.001$



**Table 2.** Average values and standard errors of live weight and some tail measurements on 105th day by breed and diet groups.

Body Measurements	Diet (D)		Breed (B)			Significant	
	Roughage	Concentrate Diet	Akkaraman	Karayaka	Herik	D	B
Live Weight	22.35±0.50	23.98±0.50	23.74±0.70	22.35±0.61	23.39±0.60	NS	NS
Upper Tail Width (cm)	19.79±1.01	20.25±1.20	25.34±1.16 <sup>a</sup>	14.50±0.47 <sup>c</sup>	20.22±0.45 <sup>b</sup>	NS	***
Upper Tail Circumference (cm)	31.69±1.54	33.50±1.83	39.09±1.34 <sup>a</sup>	23.00±0.57 <sup>b</sup>	35.69±1.28 <sup>a</sup>	NS	***
Upper Tail Depth (mm)	38.14±1.64	44.26±1.85	42.36±2.25	38.94±2.07	42.30±2.47	*	NS

NS: Not Significant (P>0.05)

a, b, c Mean values in the same row with different letters differ significantly (P<0.05).

\*\*P<0.01

\*\*\*P<0.001

**Table 3.** Average values and standard errors of live weight and some tail measurements on 135th day by breed and diet groups.

Body Measurements	Diet (D)		Breed (B)			Significant	
	Roughage	Concentrate Diet	Akkaraman	Karayaka	Herik	D	B
Live Weight	26.99±0.68	31.62±0.65	30.09±1.07	28.50±0.99	29.33±0.94	***	NS
Upper Tail Width (cm)	22.44±1.15	27.52±1.55	29.66±1.19 <sup>a</sup>	17.38±0.69 <sup>b</sup>	27.91±1.44 <sup>a</sup>	***	***
Upper Tail Circumference (cm)	36.35±1.70	41.44±2.32	47.09±1.71 <sup>a</sup>	27.44±0.76 <sup>b</sup>	42.16±1.70 <sup>a</sup>	***	***
Upper Tail Depth (mm)	48.36±2.26	49.84±2.95	41.38±1.63 <sup>b</sup>	46.01±3.09 <sup>b</sup>	59.90±2.68 <sup>a</sup>	NS	***

NS: Not Significant (P>0.05)

a, b, c Mean values in the same row with different letters differ significantly (P<0.05).

\*\*P<0.01

\*\*\*P<0.001

**Table 4.** Average values and standard errors of live weight and some tail measurements on 165th day by breed and diet groups.

Body Measurements	Diet (D)		Breed (B)			Significant	
	Roughage	Concentrate Diet	Akkaraman	Karayaka	Herik	D	B
Live Weight	31.81±0.89	37.04±0.66	36.05±0.92	32.99±1.23	34.62±1.07	***	NS
Upper Tail Width (cm)	23.38±1.52	28.00±1.76	32.69±1.24 <sup>a</sup>	17.63±0.60 <sup>c</sup>	28.88±1.34 <sup>b</sup>	***	***
Upper Tail Circumference (cm)	38.71±2.25	43.29±2.62	50.42±1.72 <sup>a</sup>	28.84±0.77 <sup>b</sup>	46.69±1.79 <sup>a</sup>	*	***
Upper Tail Depth (mm)	42.69±1.90	52.87±3.74	47.23±2.31 <sup>a</sup>	39.00±2.08 <sup>b</sup>	57.17±4.11 <sup>a</sup>	**	***

NS: Not Significant (P>0.05)

a, b, c Mean values in the same row with different letters differ significantly (P<0.05).

\*\*P<0.01

\*\*\*P<0.001

**Table 5.** Correlation relationship between live weights and some tail measurements on 75th and 105th day of Akkaraman, Karayaka and Herik lambs.

Tail Measurements	Akkaraman		Karayaka		Herik	
	75. Day Live Weight	105. Day Live Weight	75. Day Live Weight	105. Day Live Weight	75. Day Live Weight	105. Day Live Weight
Upper Tail Width	-	0.343	-	0.212	-	0.513*
Upper Tail Circumference	0.079	0.300	0.384	0.377	-0.003	0.327
Upper Tail Depth	0.227	0.384	0.008	0.152	0.232	0.021

\* P<0.05 \*\*P<0.01

**Table 6.** Correlation relationship between live weights and some tail measurements on 135th and 165th day of Akkaraman, Karayaka and Herik lambs.

Tail Measurements	Akkaraman		Karayaka		Herik	
	135. Day Live Weight	165. Day Live Weight	135. Day Live Weight	165. Day Live Weight	135. Day Live Weight	165. Day Live Weight
Upper Tail Width	0.557*	0.306	0.796**	0.754**	0.741**	0.864**
Upper Tail Circumference	0.494	0.310	0.567*	0.674**	0.755**	0.795**
Upper Tail Depth	0.259	0.122	-0.179	0.288	0.483	0.457

\* P<0.05 \*\*P<0.01

#### 4. DISCUSSION

Teke et al. (2017)'s research on Herik sheep, reported that the upper tail width, upper tail circumference and upper tail depth of sheep with an average live weight 40 kg were determined as 26.07cm, 43.57cm and 39.95mm, respectively. In this study, the results obtained for upper tail width and upper tail

circumference by Teke et al. (2017) was found to be similar to the findings. On the other hand, the average value determined for the upper tail depth was found to be higher than the value reported for the same feature by Teke et al. (2017). In the study on Malya sheep of Çilek and Petkova (2016), a significant phenotypic correlation relationship was reported. In the study by Vatankhah and Talebi (2008) in Lori-Bakhtiari sheep, upper tail width, upper tail circumference, and tail depth measurements were made at regular intervals. It was reported that there was a significant positive correlation between body weight and all tail measurements, and the correlation relationship was especially high and moderate at 3 and 6 months, respectively. Younas et al. (2013) investigated the relationships between body weight with measures including tail length and width for different age groups in Hissardale sheep. As a result of the research, it was reported that there is a positive correlation between live weight and upper tail width, which increases with sheep's age. Another research (Hamouda and Atti, 2011), the relationship between body weight with upper tail width, upper tail circumference and upper tail depth measurements in fat-tailed Barbarine sheep. As a result of the study, it was reported that there was a high correlation between live weight and these tail measurements. The same study, it was determined that the highest correlation between these tail measurements and body weight was between upper tail width and body weight. In the study by Jafari and Razzagzadeh (2016), the relationship between tail width and depth measurements with growth rate and body weight was investigated. Between tail width and live weight was found a high correlation. In this study, the direction and level of the correlation relationship between the determined body weight and the specified tail measurements were found to be a similar to the researchers' results.

## 5. CONCLUSION

All measurements determined that the effect of breed on the upper tail width and upper tail circumference values was significant. In general, it was determined that the Karayaka breed had a lower mean value than the other two breeds, and the Akkaraman breed had a higher mean value than the other two breeds. It was determined that there was the highest correlation between live weight value and upper tail width among tail measurements in all three breeds and this relationship increased from the 75th day to the 165th day in general. The relationship was determined to have-reached the highest value on the 165th day in the Herik breed. The diet showed its effect on tail measurements from the 105th day.

## 6. REFERENCES

- Akcapinar, H. & Ozbeyaz, C. (1999). *Hayvan Yetistiriciligi Temel Bilgileri*. 1. Baskı, Kariyer Matbaacilik, Ankara, ISBN: 975-96978-0-7
- Akcapinar, H. (2000). *Koyun Yetistiriciligi*. Ismat Matbaacilik, Yenilenmis 2. Baskı, Ankara, SBN. 9759697815.
- Cilek, S., & Petkova, M. (2016). Phenotypic correlations between some body measurements and prediction of body weight of Malya sheep. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 22(1), 99-105.
- Hamouda, M. B., & Atti, N. (2011). Comparison of growth curves of lamb fat tail measurements and their relationship with body weight in Babarine sheep. *Small Ruminant Research*, 95(2-3), 120-127.
- Jafari, S., & Razzagzadeh, S. (2016). Genetic analysis and the estimates of genetic and phenotypic correlation of growth rates, Kleiber ratios, and fat-tail dimensions with birth to yearling live body weight traits in Makuie sheep. *Tropical animal health and production*, 48(3), 667-672.
- Kashan, N. E. J., Azar, G. M., Afzalzadeh, A., & Salehi, A. (2005). Growth performance and carcass quality of fattening lambs from fat-tailed and tailed sheep breeds. *Small Ruminant Research*, 60(3), 267-271.
- Teke, B., Uğurlu, M., Akdağ, F., & Ekiz, B. (2017). The Relationship between Body Dimensions and Fat Deposits in Herik Lambs. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 23(1).
- Vatankhah, M., & Talebi, M. A. (2008). Genetic parameters of body weight and fat-tail measurements in lambs. *Small Ruminant Research*, 75(1), 1-6.
- Younas, U., Abdullah, M., Bhatti, J. A., Pasha, T. N., Ahmad, N., Nasir, M., & Hussain, A. (2013). Inter-relationship of body weight with linear body measurements in Hissardale sheep at different stages of life. *J. Anim. Plant Sci*, 23(1), 40-44.

**AMBALAJ ÇEŞİDİ VE DEPOLAMA KOŞULLARININ GELENEKSEL YÖNTEMLE  
ÜRETİLEN MALATYA PEYNİRİNİN MİKROELEMENT İÇERİĞİ ÜZERİNE ETKİSİ**  
**THE EFFECT OF PACKAGING TYPE AND STORAGE CONDITIONS ON  
MICROELEMENT CONTENT OF TRADITIONALLY PRODUCED MALATYA CHEESE**

**Doğan YAŞAR<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Van, Türkiye.*

<sup>1</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9527-1011>*

**Şenol KÖSE<sup>2</sup>**

<sup>2</sup><sup>1</sup>*Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Van, Türkiye.*

<sup>2</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0599-6030>*

**ÖZET**

Bu çalışmada, ambalaj çeşidi ve depolama koşullarının geleneksel yöntemle inek sütünden üretilen Malatya peynirlerinin mikroelement (Fe, Cu, Mn ve Zn) içeriği üzerine etkisi araştırılmıştır. Depolama süresince Malatya peynirlerinin bir kısmı salamura içerisinde plastik bidon, bir kısmı ise kuru tuzlanarak polietilen poşet içerisinde 7 ve 20 °C'de olgunlaştırılmıştır. Peynir örneklerinin mikroelement içerikleri İndüktif Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektrometresi (ICP-OES) ile belirlenmiştir. Peynir örneklerinde mikroelement konsantrasyonlarının büyükten küçüğe doğru Zn>Fe>Cu>Mn şeklinde sıralandığı tespit edilmiştir. Depolama süresince Malatya peynirinin Zn içeriği 33.36 ile 21.71 mg/kg, Fe içeriği 3.96 ile 2.13 mg/kg, Cu içeriği 0.92 ile 0.58 mg/kg ve Mn içeriği ise 0.36 ile 0.21 mg/kg arasında değişiklik göstermiştir. Görüldüğü gibi, depolama süresi boyunca Fe, Cu, Mn ve Zn içeriğinin azaldığı ve 20 °C'de depolanan peynirlerde meydana gelen azalmanın, 7 °C'de depolanan peynirlerden daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Kuru tuzlama yapılarak polietilen ambalajda depolanan peynirlerin mikroelement içeriği, salamura içerisinde plastik bidonda depolanan örneklerden daha yüksek bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Malatya peyniri, mikroelement, ambalaj çeşidi, depolama koşulları.

**ABSTRACT**

In this study, the effect of packaging type and storage conditions on the microelement content of Malatya cheese produced from cow's milk with the traditional method was investigated. During the storage period, some of the Malatya cheeses were ripened in brine in plastic drums and some of them were dry-salted in a polyethylene bag at 7 and 20 °C. Microelement (Fe, Cu, Mn, Zn) content of cheese samples were examined by Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometer(ICP-OES). It was determined that the microelement concentration of the cheese samples was ordered from the highest to the lowest as Zn>Fe>Cu>Mn. During storage, Zn content of Malatya cheese varied between 33.36 and 21.71 mg/kg, Fe content between 3.96 and 2.13 mg/kg, Cu content between 0.92 and 0.58 mg/kg and Mn content between 0.36 and 0.21 mg/kg. As can be seen, it was determined that Zn, Fe, Cu and Mn contents decreased during the storage period and the decrease in cheese stored at 20 °C was more than that of cheese stored at 7 °C. The microelement content of the cheeses stored in polyethylene packaging by dry salting was found to be higher than the samples stored in brine and in plastic drums.

**Keywords:** Malatya cheese, microelement, packaging type, storage conditions.

## 1. GİRİŞ

Geleneksel yöntemle üretilen Malatya peyniri çiğ inek, koyun veya keçi sütünden ya da bunların farklı oranlarda karışımından starter kültür kullanılmadan üretilmektedir. Bu peynir, Malatya ve çevre illerinde uzun yıllardan beri geleneksel olarak üretilirken, yaklaşık 20 yıldan beri Malatya ilindeki bazı fabrikalar tarafından da pastörize inek sütünden starter kültür kullanılarak endüstriyel yöntemle üretilmektedir (Hayaloğlu ve Karabulut, 2008).

Malatya peyniri, peynir pıhtısının haşlanarak dairesel yassı şekil alması ve peynirin salamurada olgunlaştırılması nedeniyle hem salamuralı peynirler hem de pasta-filata tipi peynirler sınıfında yer almaktadır. Malatya peynirinde peynir pıhtısına uygulanan ısı işlem peynir bezinin içerisine konulan pıhtının baskıyla küresel şekil almış halinin haşlanması şeklinde gerçekleştirilmektedir. Bundan dolayı, peynir haşlama (3-5 dak.) sırasında yoğrulmamakta, küresel şekilli yapı sıcak peynir altı suyuna daldırılıp çıkarılarak yeniden baskıya alınmaktadır. Yaklaşık 10 dakika baskılama işlemine tabi tutulan peynirler salamurada bekletilerek taze veya olgunlaştırılmış olarak satılmaktadır. Bu nedenle, Malatya peyniri, yarı-sert bir tekstüre sahip olup salamurada olgunlaşan peynirler sınıfında yer almaktadır (Hayaloğlu ve Karabulut, 2008; Yaşar, 2021).

Peynirin fiziksel (tekstür ve mikro yapı), biyokimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinde haşlama işlemiyle bazı değişiklikler oluşabilmektedir. Bu işlem sırasında uygulanan sıcaklığın peynir mikroflorasını etkileyerek toplam mikroorganizma sayısında azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir (Özer ve ark., 2004). Bu tip peynirlerin karakteristik özelliğini ve yapısını kazanabilmesi için haşlama işlemi gerekli bir işlem olmasına rağmen, peynir belirli bir sıcaklığa maruz kaldığından dolayı kalıntı rennet enzimi, çiğ sütün bünyesinde bulunan veya sonradan ilave edilen starter olmayan laktik asit bakterilerinde ve bunların enzimlerinde zarara yol açmaktadır. Bundan dolayı, Malatya peyniri bu sınıfta yer alan diğer peynirlerle (ör. Gaziantep, Urfa, Hellim) benzer şekilde yavaş olgunlaşmakta olup peynirde çözünür azotlu madde fraksiyonlarındaki artış diğer salamura tipi peynirlere (ör. Beyaz peynir) oranla daha düşük olmaktadır. Bu durumun sonucunda, peynirlerde üretimden 2-3 ay sonra bile taze peynir tat ve aroması algılanabilmektedir (Hayaloğlu ve ark., 2010).

Son yıllarda Malatya peynirinin üretimi ve çeşitli özellikleri üzerine birçok çalışma yapılmıştır (Hayaloğlu ve Branchany, 2007; Hayaloğlu ve ark., 2008; Hayaloğlu ve ark., 2010; Hayaloğlu ve Karabulut, 2013; Karatekin, 2014; Yaşar, 2021; Yasar ve ark., 2021; Kose ve ark., 2022; Yaşar ve Köse, 2022). Malatya peynirinin mikroelement içeriği hakkında bilgi veren sadece bir çalışma (Kose ve ark., 2022) mevcuttur. İlgili çalışmada, farklı üreticiler tarafından geleneksel yöntemle üretilen Malatya peynirlerinin makro ve mikroelement içeriği belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmada ise, geleneksel yöntem kullanılarak üretilen, farklı ambalajlarda ve farklı sıcaklıklarda depolanan Malatya peynirlerinin depolama süresince mikroelement içeriğindeki değişimlerin izlenmesi hedeflenmiştir.

## 2. MATERYAL ve METOT

### 2.1. Materyal

Malatya peyniri yapımında çiğ inek sütü kullanılmıştır. Bu peynirin üretimi Malatya ili Doğanşehir ilçesinde yaşayan ve yıllardır geleneksel yöntemle üretim yapan bir çiftçi ile birlikte gerçekleştirilmiştir. Peynirin üretiminde ticari peynir mayası (Mayasan A.Ş., İstanbul) ve ambalaj olarak da polietilen poşet (Koroplast, İstanbul), steril plastik bidon (Günpak Gıda, Erzincan) kullanılmıştır.

#### 2.1.1. Deneme Peynirlerinin Üretimi

Geleneksel Malatya peyniri üretimi için kullanılacak çiğ süt süzme bezi yardımıyla kirlerinden arındırılarak 32°C'ye kadar ısıtılmış ve ticari peynir mayası ilave edilerek yaklaşık 90 dakikada pıhtılaştırılmıştır. Koagülasyonun ardından, pıhtı kesilerek üçgen şeklindeki tülbe bezlerin içine alınmış (200g kadar) ve 3 saat baskılama işlemine tabi tutulmuştur. Daha sonra, yaklaşık 85°C'deki peynir altı suyunda haşlama (3-5 dk) işlemi yapılarak peynir örneklerinin yaklaşık 2 saat yeniden baskılanması ve arzulanan oluklu yapının oluşması sağlanmıştır. Baskılanan peynirlerin bir kısmı %12'lük (w/v) salamura içerisinde plastik bidon, bir kısmı da kuru tuzlama yapılarak steril polietilen poşet içerisinde 120 gün boyunca farklı sıcaklıklarda (+7 ve +20°C) depolanmıştır (Yaşar, 2021). Plastik bidon ve polietilen poşet içerisinde olgunlaşan peynir örneklerinde 2., 30., 60., 90., ve 120., günlerde birer örnek alınarak mikroelement içeriği tespit edilmiştir.

## 2.2. Yöntem

### 2.2.1. Mineral Madde Tayini

Geleneksel yöntemle üretilen Malatya peynirlerinin mineral madde analizi, TS 3606'da belirtilen kuru yakma yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Anonim, 1995). Bu amaçla, 2.5-3 g peynir örneği porselen krozeyle tartılarak önce etüvde kurutma, daha sonra kül fırınında yakma işlemine (500-550°C) tabi tutulmuştur. Elde edilen küller 5 ml derişik nitrik asitte çözündürülmüş ve 1 N nitrik asit ile de 100 ml'ye tamamlanarak plastik kaplara aktarılmıştır. Plastik kaplardaki çözeltilerden uygun seyreltmeler yapılarak analiz örneklerinin Zn, Fe, Cu ve Mn konsantrasyonları, Van YYÜ Bilim Araştırma ve Uygulama Merkez'indeki ICP-OES cihazı kullanılarak tespit edilmiştir.

### 2.2.2. İstatiksel Analizler

Çalışmada gruplara ait ortalamalar arasındaki farklılıkların belirlenmesinde SPSS (V.20) programı kullanılarak genel doğrusal model (GLM) analizi yapılmış, üç grup arasındaki farklılıkların belirlenmesinde Duncan çoklu karşılaştırma ve iki bağımsız grubun karşılaştırılmasında ise t testi kullanılmıştır.

## 3. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 3.1. Malatya peynirinin Çinko (Zn) içerikleri

Çinko demirden sonra vücutta en çok bulunan ikinci iz elementtir. Hücre seviyesinde DNA metabolizması ve 300'e yakın enzimin yapısına katılmaktadır (Kahraman, 2011).

**Çizelge 1.** Farklı sıcaklıklarda ve ambalajlarda olgunlaştırılan Malatya peynirlerinin depolama süresince Zn değerlerindeki değişimler (mg/kg)

Ambalaj çeşidi	Depolama Sıcaklığı (°C)	Depolama süresi (Gün)				
		2	30	60	90	120
Plastik	7	30.22±0.93 <sup>A</sup>	29.36±0.17 <sup>Aa</sup>	28.52±0.05 <sup>Aa</sup>	24.87±0.99 <sup>B</sup>	23.97±0.30 <sup>Ba</sup>
	20	30.22±0.93 <sup>A</sup>	28.45±0.02 <sup>A<sup>β</sup></sup>	26.12±0.15 <sup>Ba<sup>β</sup></sup>	24.11±0.55 <sup>Ca</sup>	21.71±0.50 <sup>Da</sup>
Poliytilen	7	33.36±0.29 <sup>A</sup>	32.02±0.45 <sup>Bb</sup>	28.67±0.26 <sup>C</sup>	27.85±0.18 <sup>C</sup>	27.54±0.29 <sup>Cb</sup>
	20	33.36±0.29 <sup>A</sup>	30.50±1.49 <sup>B</sup>	28.22±0.06 <sup>BCb</sup>	27.59±0.06 <sup>Cb</sup>	27.13±0.35 <sup>Cb</sup>

<sup>A,B,C,D,E</sup> Harfleri dönemler arasındaki farkı (P<0.05),

<sup>a,b</sup> Aynı dönem aynı sıcaklıktaki örneklerin kendi aralarındaki farkı (P<0.05)

<sup>a,β</sup> Aynı ambalajın aynı dönemdeki örneklerinin kendi aralarındaki farkı (P<0.05) gösterir.

Plastik ambalajda en düşük Zn oranı 21.71 mg/kg ile 20°C'de depolanan peynir örneklerinin 120. gününde, en yüksek Zn oranı 30.22 mg/kg ile 7°C'de depolanan örneklerin 2. gününde saptanmıştır. Poliytilen ambalajda en düşük Zn oranı 27.13 mg/kg ile 20°C'de depolanan örneklerin 120. gününde, en yüksek Zn oranı 33.36 mg/kg ile 20°C'de depolanan örneklerin 2. gününde tespit edilmiştir.

Sağun ve ark. (2005) Otlu peynirlerin Zn oranının 33.63 ile 35.08 mg/kg, Altun ve Köse (2016) Kelle peynirlerinin Zn oranının 22.70 ile 65.37 mg/kg, Çetinkaya ve ark. (2016) Trabzon Cami Boğazı peynirlerinin Zn oranının 11.88 ile 36.94 mg/kg, İşleten ve ark. (2007) Ezine peynirlerinin Zn oranının 2.12 ile 8.19 mg/100g arasında değişiklik gösterdiğini bildirmiştir. Çalışmada elde edilen bulguların literatürdeki bazı değerlerden düşük, bazı değerlere ise yakın olduğu tespit edilmiştir. Bu duruma kullanılan alet-ekipmanlardan ve ambalajlardan kaynaklanan kontaminasyonun neden olduğu düşünülmektedir.

### 3.2. Malatya peynirinin Demir (Fe) içerikleri

Demir miyogloblin, hemoglobin, ve sitokromlar olmak üzere çeşitli dokulara dağılmış halde bulunmakta olup oksijenin taşınması, depolanması ve kullanımında önemli bir yere sahiptir (Zamberlin ve ark., 2012). Demir eksikliği durumunda beyin fonksiyonlarında zayıflama, fiziksel yorgunluk, anemi, ve hamile kalma oranının azalması gibi birçok sağlık problemi oluşmaktadır (Kınık ve ark., 2003).

**Çizelge 2.** Farklı sıcaklıklarda ve ambalajlarda olgunlaştırılan Malatya peynirlerinin depolama süresince Fe değerlerindeki değişimler (mg/kg)

Ambalaj çeşidi	Depolama Sıcaklığı (°C)	Depolama süresi (Gün)				
		2	30	60	90	120
Plastik	7	3.14±0.07 <sup>A</sup>	2.82±0.14 <sup>A</sup>	2.74±0.43 <sup>A</sup>	2.61±0.36 <sup>A</sup>	2.78±0.16 <sup>A</sup>
	20	3.14±0.07 <sup>A</sup>	2.57±0.41 <sup>AB</sup>	2.32±0.17 <sup>Ba</sup>	2.09±0.04 <sup>B</sup>	2.13±0.10 <sup>B</sup>
Polietilen	7	3.96±0.62 <sup>A</sup>	3.70±0.52 <sup>A</sup>	3.41±0.12 <sup>A</sup>	3.32±0.03 <sup>Aα</sup>	3.05±0.14 <sup>A</sup>
	20	3.96±0.62 <sup>A</sup>	3.35±0.16 <sup>AB</sup>	3.07±0.03 <sup>ABb</sup>	2.53±0.17 <sup>Bβ</sup>	3.01±0.47 <sup>AB</sup>

<sup>A,B,C,D,E</sup> Harfleri dönemler arasındaki farkı (P<0.05),

<sup>a,b</sup> Aynı dönem aynı sıcaklıktaki örneklerin kendi aralarındaki farkı (P<0.05),

<sup>α,β</sup> Aynı ambalajın aynı dönemdeki örneklerinin kendi aralarındaki farkı (P<0.05) gösterir.

Plastik ambalajda en düşük Fe oranı 2.09 mg/kg ile 20°C’de depolanan peynir örneklerinin 90. gününde, en yüksek Fe oranı 3.14 mg/kg ile 7°C’de depolanan örneklerin 2. gününde saptanmıştır. Polietilen ambalajda en düşük Fe oranı 2.53 mg/kg ile 20°C’de depolanan örneklerin 90. gününde, en yüksek Fe oranı 3.96 mg/kg ile 20°C’de depolanan örneklerin 2. gününde tespit edilmiştir.

Altun ve Köse (2016) Kelle peynirlerinin Fe oranının 2.08 ile 6.44 mg/kg, İşleten ve ark. (2007) Ezine peynirlerinin Fe oranının 0.90 ile 8.55 mg/100g, Köse ve Ocak (2019) Otlu peynirlerin Fe oranının 2.97 ile 6.59 mg/kg arasında değişiklik gösterdiğini bildirmiştir. Elde edilen verilerin Altun ve Köse (2016) ile Köse ve Ocak (2019)’ın bulmuş olduğu değerlerle benzer, İşleten ve ark. (2007)’nin tespit ettiği değerlerden ise düşük olduğu saptanmıştır.

### 3.3. Malatya peynirinin Bakır (Cu) içerikleri

Vücuttaki dokuların yenilenmesi ve kemiklerin sağlam olması için çalışan enzimler, protein sentezlenmesi, enerjinin üretilmesi ve alyuvarların oluşumu bakır varlığında gerçekleşmektedir. Bakır havanın oksijeni ile reaksiyona girerek süt ve ürünlerinde oksitlenmiş tada neden olan yağ oksidasyonunu katalizlemektedir. Düşük bakır konsantrasyonları olgunlaşmayı hızlandırmaktadır (Kınık ve ark., 2001).

**Çizelge 3.** Farklı sıcaklıklarda ve ambalajlarda olgunlaştırılan Malatya peynirlerinin depolama süresince Cu değerlerindeki değişimler (mg/kg)

Ambalaj çeşidi	Depolama Sıcaklığı (°C)	Depolama süresi (Gün)				
		2	30	60	90	120
Plastik	7	0.88±0.05 <sup>A</sup>	0.84±0.01 <sup>A</sup>	0.78±0.04 <sup>AB</sup>	0.72±0.02 <sup>CB</sup>	0.63±0.02 <sup>C</sup>
	20	0.88±0.05 <sup>A</sup>	0.78±0.02 <sup>AB</sup>	0.74±0.01 <sup>CB</sup>	0.66±0.01 <sup>CD</sup>	0.58±0.05 <sup>D</sup>
Polietilen	7	0.92±0.04 <sup>A</sup>	0.87±0.01 <sup>A</sup>	0.79±0.01 <sup>B</sup>	0.74±0.01 <sup>B</sup>	0.65±0.01 <sup>C</sup>
	20	0.92±0.04 <sup>A</sup>	0.83±0.02 <sup>AB</sup>	0.76±0.01 <sup>CB</sup>	0.70±0.02 <sup>C</sup>	0.60±0.04 <sup>D</sup>

<sup>A,B,C,D,E</sup> Harfleri dönemler arasındaki farkı (P<0.05) gösterir.

Plastik ambalajda en düşük Cu oranı 0.58 mg/kg ile 20°C’de depolanan peynir örneklerinin 120. gününde, en yüksek Cu oranı 0.88 mg/kg ile 7°C’de depolanan örneklerin 2. gününde saptanmıştır. Polietilen ambalajda en düşük Cu oranı 0.60 mg/kg ile 20°C’de depolanan örneklerin 120. gününde, en yüksek Cu oranı 0.92 mg/kg ile 20°C’de depolanan örneklerin 2. gününde tespit edilmiştir.

Çetinkaya ve ark. (2016) Cami Boğazı peynirlerinin Cu oranının 0.90 ile 2.04 mg/kg, Öksüztepe ve ark. (2013) taze Beyaz peynirlerin Cu oranının 0.21 ile 0.77 mg/kg, İşleten ve ark. (2007) Ezine peynirlerin Cu oranının 0.04 ile 0.58 mg/100g, Ocak ve Köse (2015) Otlu peynirlerin Cu oranının 0.29 ile 2.60 mg/kg arasında değiştiğini bildirmiştir. Çalışmada tespit edilen Cu oranının Öksüztepe ve ark. (2013)’nin belirlemiş olduğu değerlerden yüksek, Çetinkaya ve ark. (2016)’nın belirlemiş olduğu

değerlerden düşük, Ocak ve Köse (2015) ve İşleten ve ark. (2007)'nin belirlemiş olduğu değerlere ise yakın olduğu saptanmıştır. Bu duruma, peynir üretiminde kullanılan alet ve ekipmanlardan kaynaklanan kontaminasyonun neden olduğu düşünülmektedir.

### 3.4. Malatya peynirinin Mangan (Mn) içerikleri

Kemik oluşumu, kan şekeri düzenlemesi, bağışıklık sistemleri fonksiyonları ve kemik gelişimi gibi birçok işlemden Mn elementi rol oynar. Günlük mangan alımının maksimum 11 mg/gün geçmemesi önerilmektedir (NRC, 1989).

**Çizelge 4.** Farklı sıcaklıklarda ve ambalajlarda olgunlaştırılan Malatya peynirlerinin depolama süresince Mn değerlerindeki değişimler (mg/kg)

Ambalaj çeşidi	Depolama Sıcaklığı (°C)	Depolama süresi (Gün)				
		2	30	60	90	120
Plastik	7	0.34±0.01 <sup>A</sup>	0.32±0.03 <sup>A</sup>	0.27±0.02 <sup>B</sup>	0.25±0.01 <sup>B</sup>	0.23±0.01 <sup>B</sup>
	20	0.34±0.01 <sup>A</sup>	0.25±0.01 <sup>B</sup>	0.23±0.01 <sup>B</sup>	0.22±0.02 <sup>B</sup>	0.21±0.02 <sup>B</sup>
Polietilen	7	0.36±0.01 <sup>A</sup>	0.34±0.01 <sup>Aα</sup>	0.27±0.02 <sup>B</sup>	0.25±0.00 <sup>B</sup>	0.24±0.01 <sup>B</sup>
	20	0.36±0.01 <sup>A</sup>	0.30±0.01 <sup>Bβ</sup>	0.25±0.01 <sup>C</sup>	0.24±0.01 <sup>CD</sup>	0.22±0.00 <sup>D</sup>

<sup>A,B,C,D,E</sup> Harfleri dönemler arasındaki farkı (P<0.05),

<sup>α,β</sup> Aynı ambalajın aynı dönemdeki örneklerinin kendi aralarındaki farkı (P<0.05) gösterir.

Plastik ambalajda en düşük Mn oranı 0.21 mg/kg ile 20°C'de depolanan peynir örneklerinin 120. gününde, en yüksek Mn oranı 30.34 mg/kg ile 7°C'de depolanan örneklerin 2. gününde saptanmıştır. Polietilen ambalajda en düşük Mn oranı 0.22 mg/kg ile 20°C'de depolanan örneklerin 120. gününde, en yüksek Mn oranı 0.36 mg/kg ile 20°C'de depolanan örneklerin 2. gününde tespit edilmiştir.

Altun ve Köse (2016) Kelle peynirlerinin Mn oranının 0.16 ile 0.80 mg/kg, Türk ve ark. (2020) Hatay yöresinde üretilen Carra peynirlerinin Mn oranının 0.52 mg/kg, Çetinkaya ve ark. (2016) Cami Boğazı peynirlerinin ortalama Mn oranının 0.31 mg/kg, Özlü ve ark. (2012) taze Kaşar peynirlerinin Mn oranının 0.04 ile 0.39 mg/kg aralığında değiştiğini saptamıştır. Çalışmada elde edilen Mn sonuçlarının karşılaştırdığımız peynirlerin bazılarında düşük, bazılarında yüksek ve bazılarında ise yakın olduğu saptanmıştır. Bu durumun, kullanılan süt çeşidinden, kullanılan alet ve ekipmanlardan ve peynirlerin üretim yöntemindeki farklılıktan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

## 4. SONUÇ

Bu çalışma sonucunda Malatya peynirlerinin Fe, Cu, Mn ve Zn içeriğinin ambalaj çeşidi, depolama sıcaklığı ve depolama süresine bağlı olarak değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir. Depolama süresince analiz edilen mikroelement içeriğinin zamana bağlı olarak farklı oranlarda azaldığı tespit edilmiştir. Kuru tuzlama yapılarak polietilen ambalajda depolanan peynirlerin mikroelement içeriğindeki azalma, salamura içerisinde plastik bidonda depolanan örneklerden daha düşük bulunmuştur. Salamura içerisinde 20°C'de depolanan peynir örneklerinin mikroelement içeriğindeki kaybın 7 °C'de depolanan örneklerden daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma, ambalaj çeşidi ve depolama koşullarının geleneksel yöntemle üretilen Malatya peynirinin mikroelement içeriği üzerine etkisinin belirlendiği ilk çalışmadır. Bundan dolayı, çeşitli faktörlerin Malatya peynirlerinin mineral bileşimlerine etkisini belirlemek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

## 5. TEŞEKKÜR

Bu çalışma Doğan YAŞAR'ın Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi FYL-2020-8851 nolu proje kapsamında desteklenen "Ambalaj çeşidi, depolama süresi ve sıcaklığının geleneksel yöntemle üretilen Malatya peynirinin bazı karakteristik özellikleri üzerine etkisi" başlıklı yüksek lisans tezinden (Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yök Tez No:688437) üretilmiştir.



**6. KAYNAKLAR**

- Anonim, 1995. TS 3606 "Gıdalarda metal iyonlarının tayini". Türk Standartları Enstitüsü, Bakanlıklar, Ankara.
- Altun, İ., & Köse, Ş. 2016. Geleneksel kelle peynirinin bazı özelliklerinin belirlenmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi, 26 (4): 642-647.
- Çetinkaya, A., Buğra Akbaba, G., Özçakmak, S., & Gülbaz, G. 2016. Trabzon'da tüketime sunulan cami boğazi peynirlerinin mineral madde içeriği ve ağır metal kontaminasyonu. Gıda, 14(5):317-321.
- Hayaloğlu, A.A., & Brechany, E.Y. 2007. Influence of Milk Pasteurization and Scalding Temperature on the Volatile Compounds of Malatya, a Farmhouse Halloumi-Type Cheese. Lait, 87 (1): 39-57.
- Hayaloğlu, A.A., & Karabulut, İ. 2008. Haşlama Sıcaklığı, ph, kalsiyum ve tuz konsantrasyonunun Malatya peynirinin yapısal, fonksiyonel ve olgunlaşma özellikleri üzerine etkisi. Proje No: 107 O 318, TÜBİTAK, Ankara.
- Hayaloğlu AA, Özer BH, & Fox PF, 2008. Cheeses of Turkey: 2. Varieties Ripened Under Brine. Dairy Science & Technology, 88: 225-244.
- Hayaloğlu, A.A., Deegan, K.C., & McSweeney, P.L.H. 2010. Effect of milk pasteurization and curd scalding temperature on proteolysis in Malatya, a Halloumi-type cheese. Dairy Science & Technology, 90 (1): 99-109.
- Hayaloglu, A. A., & Karabulut, I. (2013). SPME/GC-MS characterization and comparison of volatiles of eleven varieties of Turkish cheeses. International Journal of Food Properties, 16(7), 1630-1653.
- İşleten, M., Uysal-Pala, Ç., & Karagül-Yüceer, Y. 2007. Ezine peynirinin mineral madde içeriği. GIDA, 32(4); 173-179.
- Kahraman, Ö. 2011. Süt ve süt ürünlerinin çinko ile zenginleştirilmesine ilişkin yaklaşımlar. Gıda, 36(4):241-248.
- Karatekin B, 2014. Bazı üretim parametrelerinin Malatya peynirinin fonksiyonel ve olgunlaşma özellikleri üzerine etkisi . İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (Basılmış).
- Kınık, S. T., Kandemir, N., Baykan, A., Akalan, N., & Yordam, N. 2001. Fludrocortisone treatment in a child with severe cerebral salt wasting. Pediatric neurosurgery, 35(4): 216-219.
- Kınık, Ö., Gürsoy, O., & Gökçe, R. 2003. Süt ürünlerinin demir ile zenginleştirilmesi. Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, 9(3):393-401.
- Kose, S., Ceylan, M.M., Altun, I., & Erim Kose, Y. 2022. Determination of some basic properties of traditional Malatya cheese. Food Science and Technology, Campinas, v42, e03921.
- Köse, Ş., & Ocak, E. 2019. Mineral composition of herby cheese produced from raw and pasteurized milk. Applied Ecology And Environmental Research, 17(3): 7189-7201.
- NRC (National Research Council), 1989. Recommended Dietary Allowances. 10th ed. National Academic Press, Washington, DC.
- Ocak, E., & Köse, Ş. 2015. Van otlu peynirinin üretimi ve mineral madde içeriği. Gıda, 40(6): 343-348.
- Öküztepe, G., Karatepe, P., Özçelik, M., & Kürşad İncili, G. 2013. Tulum peyniri ve taze beyaz peynirlerin mineral madde ve ağır metal içeriği. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi, 27(2):93-97.
- Özer, H.B., Uraz, G., Beyzi-Yılmaz, E., & Atasoy, A.F. 2004. Effect of brine concentration and scalding on survival of some pathogens in urfa cheese: a traditional white-brined Turkish cheese. International Journal of Food Science & Technology, 39 (7): 727-735.
- Özlü, H., Atasever, A.M., Urçar, S., & Atasever, M. 2012. Erzurum'da tüketime sunulan kaşar peynirlerinin mineral madde içeriği ve ağır metal kontaminasyonu. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 18(2): 205-208.

- Sağun, E., Tarakçı, Z., Sancak, H., & Durmaz, H. 2005. Salamura otlu peynirde olgunlaşma süresince mineral madde değişimi. *YYÜ Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16(1): 21-25.
- Türk, E., Tekeli, İ.O., & Kırgız, F.C. 2020. Hatay’da bazı yöresel peynir çeşitlerinin ağır metal düzeylerinin belirlenmesi. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 13(2), 130-134.
- Yaşar, D. 2021. Ambalaj Çeşidi, Depolama Süresi ve Sıcaklığının Geleneksel Yöntemle Üretilen Malatya Peynirinin Bazı Karakteristik Özellikleri Üzerine Etkisi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (Basılmış).
- Yasar, D., Erim Kose, Y., & Kose, S. 2021. Kinetic modeling of macroelement concentration of malatya cheese produced by traditional method. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(12): e16021.
- Yaşar, D., & Köse Ş. 2022. Geleneksel yöntemle üretilen malatya peynirinin bazı kimyasal ve biyokimyasal özellikleri üzerine ambalaj çeşidi ve farklı depolama koşullarının etkisi. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 12(4): 2237 - 2248.
- Zamberlin, S., Antunac, N., Havranek, J., & Samaržija, D. (2012). Mineral elements in milk and dairy products. *Mljekarstvo*, 62 (2): 111-125.

**THE DETERMINATION GROWTH PERFORMANCE AND SOME BODY SIZES OF  
LAMBS IN QARADOLAQ**

**KARADOLAK KUZULARINDA BÜYÜME PERFORMANSI VE BAZI VÜCUT  
ÖLÇÜLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Orkhan HAJIYEV<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Göyçay, Azərbaycan.*

<sup>1</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5778-2275>*

**Filiz AKDAĞ<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>*Ondokuz Mayıs University, Veterinary Faculty, Department of Animal Breeding and Husbandry,  
Samsun, Türkiye.*

<sup>2</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9142-9731>*

**ABSTRACT**

The aim of this research was to determine, the growth performance and various body measurement values of lambs in Qaradolaq sheep reared in Azerbaijan. Lambs were weighed in 15-day intervals until the weaning age of 90 days in this study. In addition, withers height, chest depth, body length, rump height was determined using a measuring cane and hind shank cannon bone circumferences were determined by using measuring tape at the aforementioned intervals. The mean body weight of lambs at birth was 3.23 kg, while the 90-day weaning weight was 23.49 kg. The mean wither height, breast depth, body length, rump height and posterior cannon bone circumference of lambs at weaning age were 53.00 cm; 23.35 cm; 51.88 cm; 52.51 cm and 8.81 cm, respectively. As a result, body weight values and various body size measurements were determined that is descriptive of the Qaradolaq lambs. In addition to the traits of growth performance and body measurements determined in Qaradolaq lambs, the determination of feeding performance, meat quality and milk yield characteristics would complete the information about this sheep type and shed light on future breeding works.

**Keywords:** body length, live weight, Qaradolaq sheep.

**1. INTRODUCTION**

Azerbaijan's geographical location and climatic conditions, as well as the fact that it has wide pastures, have made sheep breeding widespread especially in mountainous and foothill regions (Anonymous, 2012). The country's sheep presence consists of indigenous breeds such as Karabakh, Balbas, Bozakh, Shirvan (Shirvan), Lezgin, Azerbaijan Mountain Merino, as well as the Qaradolak, Gala-Absheron, Mazekh, Godek, Jaro and New Absheron varieties obtained by selection or crossbreeding of these breeds (Abdullayev et al., 2008). From these sheep, Qaradolak is a type of sheep obtained as a result of national selection applied to the Karabakh breed.

Many factors such as gender, birth type, parity and birth weight, climate, care and feeding are effective in postnatal growth (Akçapınar, 2000; Ekiz, 2000). In the morphological description of the growth and development of animals, measures such as withers height, chest depth, chest circumference, body length, rump height and shin circumference are emphasized (Karabacak et al., 2010). These traits are affected by genotype and many environmental factors (Atasoy et al., 2003; Işık and Aksoy, 2015).

This research was carried out to determine the growth performance up to the weaning age and the morphological characteristics of body sizes of Qaradolak lambs raised in Azerbaijan.

## 2. MATERIAL AND METHOD

The research was carried out in a private sheep farm in the Goychay region of Azerbaijan. In this research, a total of 60 head Qaradolaq lambs with a parity (maternal age) of 2 (n=20), 3 (n=19) and 4 (n=16) form the live material. During the research, no changes were made in the maintenance and nutrition conditions applied in the enterprise, and the operating conditions were applied exactly the same.

In the research, lambs were fed only breast milk until the age of 15 days. From this age to the 90-day weaning age, the lambs were supplemented with increasing amounts of up to 300 g barley and 500 g of alfalfa per animal per day at the weaning age in addition to breast milk. In order to determine the growth performance of the lambs until the weaning age, weighing was carried out at 15-day periodic intervals, without feeding the lambs in the morning. Immediately after weighing (same day) lambs' withers height, chest depth, body length and rump height were measured using a measuring stick and hind shank was measured using a measuring tape (Erol et al., 2017).

In the research, birth weight of lambs, the "Least Squares Method" was used to calculate the live weight values up to the weaning age of 90 days and the factors affecting body measurements (gender, type of birth and parity). Statistical calculations were performed using the GLM (General Linear Model) procedure from the SPSS program package.

## 3. RESULTS AND DISCUSSION

The average live weight values of the Qaradolaq lambs for different growth periods until weaning age are given in Table 1.

**Table 1.** Live weights belong to growth period in Qaradolak lambs (kg) ( $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ )

Traits	n	Birth weight	Day 15	Day 30	Day 45	Day 60	Day 75	Day 90
Parity								
2	20	3.23±0.12	5.78±0.24	7.99±0.34	12.76±0.52	16.26±0.59	19.92±0.60	23.62±0.54
3	20	3.15±0.11	5.74±0.22	8.10±0.31	12.98±0.48	16.14±0.54	19.77±0.55	23.11±0.50
4	20	3.30±0.09	6.23±0.19	8.53±0.26	13.57±0.39	16.75±0.45	20.38±0.45	23.75±0.41
Birth type								
		*	*	*	*	*	*	*
Single	50	3.42±0.06	6.47±0.12	8.83±0.16	13.99±0.25	17.41±0.28	20.85±0.28	24.26±0.26
Twin	10	3.03±0.14	5.37±0.29	7.60±0.41	12.21±0.61	15.36±0.70	19.20±0.70	22.73±0.64
Gender								
		*						
Female	30	3.11±0.09	5.81±0.18	7.95±0.25	12.85±0.38	16.03±0.43	19.85±0.43	23.45±0.40
Male	30	3.34±0.09	6.02±0.19	8.47±0.27	13.35±0.40	16.74±0.46	20.19±0.46	23.54±0.42
Total	60	3.23±0.78	5.92±0.15	8.21±0.21	13.11±0.32	16.38±0.36	20.02±0.36	23.49±0.33

\*: P<0.05

In this research, the average birth weight of Qaradolaq lambs was determined as 3.23 kg. The weaning weight at the age of three months was determined as 23.54 kg for males and 23.45 kg for females. Abdullayev et al., (2008) have determined the birth weight of Qaradolaq lambs as 4.0 kg in males and 3.6 kg in females. Also, in the same research, the live weight at the four months of age was reported as 23.4 kg in male lambs and 22.4 kg in female lambs.

Some body measurements at different growth periods until weaning age are given in Table 2. The level of significance of the effect of some environmental factors on body measurements is given in Table 3.

**Table 2.** Body measurement belong to growth period in Qaradolaq lambs (cm) ( $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ )

Traits	Day 15	Day 30	Day 45	Day 60	Day 75	Day 90
Withers height	31.94±0.72	40.76±0.23	43.68±0.21	46.97±0.26	50.07±0.29	53.00±0.30
Chest depth	6.34±0.33	9.88±0.30	13.42±0.34	16.52±0.39	19.98±0.37	23.35±0.34
Body length	35.20 ±0.26	38.10±0.28	41.48±0.31	44.42±0.37	47.89±0.36	51.88±0.37
Rump height	34.81±0.37	40.42±0.21	43.13±0.20	46.18±0.25	49.55±0.28	52.51±0.28
Hind shank	7.39±0.26	7.90±0.02	8.15±0.02	8.37±0.02	8.59±0.02	8.81±0.04

**Table 3.** The effect levels of parity, birth type and gender on body measurements.

\*:  $P < 0.05$  ; - :  $P > 0.05$

Traits	Day 15	Day 30	Day 45	Day 60	Day 75	Day 90
<b>Withers height</b>						
Paity	-	*	*	*	*	*
Birth type	*	*	*	*	*	*
Gender	-	-	-	-	*	*
<b>Chest depth</b>						
Paity	-	-	-	-	-	-
Birth type	-	-	-	*	*	*
Gender	*	*	*	-	-	-
<b>Body lenght</b>						
Paity	*	*	-	-	-	-
Birth type	*	*	*	*	*	*
Gender	-	-	-	*	*	-
<b>Rumpt height</b>						
Paity	*	*	*	*	*	*
Birth type	*	*	*	*	*	*
Gender	-	-	-	-	*	*
<b>Hind shank</b>						
Paity	*	-	-	-	-	*
Birth type		*	*	*	*	-
Gender	*	*	-	-	-	-

In this research, in which some body measurements of Qaradolaq lambs were determined until the weaning age, it was found that the body measurements of lambs at the age of 90 days were higher than the values reported by Işık and Aksoy (2015) from Bafra lambs for the same age. Sarı et al., (2014) have determined that 90 day old Hamdani lambs were higher in body length and withers height whereas smaller in chest depth and hind shank compared to this research.

#### 4. CONCLUSION

As a result of this research, live weight values up to 90-day weaning age and descriptive information about different body measurements were revealed in Qaradolaq lambs. Apart from the growth performance and body measurements determined in Qaradolaq sheep until weaning, the determination of other yield characteristics will shed light on the completion of information about this sheep type and breeding studies to be carried out in the future.

#### 5. ACKNOWLEDGEMENTS

This research article was summarized from the first author's master's thesis. A part of the study was published in Atatürk University Journal of Veterinary Sciences.

#### 6. REFERENCES

- Anonim. (2012). Yurtdışında tarım sektörüne yönelik yatırım olanakları, Azerbaycan. Ankara, T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Strateji Geliştirme Başkanlığı Tarımsal Yatırımcı Danışma Ofisi Yayını, Ankara.
- Abdullayev, M., Nadjafov, N., İsmayılov, M., Odiahkuliev, B., & Balakishiev, M.(2008). Small ruminant breed of Azerbaijan. In "Characterization of Small Ruminant Breeds in Central Asia and the Caucasus", LC Iniguez, J Mueller, "1st ed., 335-367, ICARDA, Aleppo, Syria.
- Akçapınar, H. (2000). Koyun Yetiştiriciliği. 2. Baskı, 21-123, İsnat Matbaacılık, Ankara.
- Atasoy, F., Ünal, N., & Akçapınar H. (2003). Karayaka ve Bafra (Sakız x Karayaka G1) koyunlarında bazı verim özellikleri. Turk J Vet Anim Sci, 27, 259-264.

Ekiz, B. (2000). Kıvırcık koyunlarından kaliteli kesim kuzuları elde etmek amacıyla Alman Siyah Başlı etçi koyunu genotiplerinden yararlanma olanakları. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Türkiye.

Erol, H., Akçapınar, H., Özbeyaz, C., Özdemir, P., & Ünal N.(2017). Lalahan koyununda (Kıvırcık x Akkaraman G1) döl verimi ve bazı morfolojik özelliklerin incelenmesi. Lalahan Hay Araşt Enst Derg, 57 (2): 69-76.

Işık, A.S., & Aksoy, A.R.(2015). The growth traits of Bafra sheep (Chios x Karayaka B1) at Kazım Karabekir Agriculture Centre. Van Vet J, 26 (2): 93-99.

Karabacak, A., Boztepe, S., Dağ, B., & Şahin Ö.(2010). Bazı Türkiye yerli ırk koyunlarında entansif besi süresince vücut ölçülerinin değişimi. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, 7(1):31-38.

Sarı, M., Önk, K., Aksoy, A.R., Tilki, M., & Işık, A.S.(2014). Hemşin kuzularda büyüme ve bazı vücut ölçülerinin belirlenmesi. Lalahan Hay Arşt Enst Derg, 51(1):15-20.

**KEDİ VE KÖPEKLERDE DİYALİZ**  
**DIALYSIS IN DOGS AND CATS**

**Ceren KÖKLÜKAYA<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Veteriner Hekim Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Burdur, Türkiye.*

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5381-4097>

**Şima ŞAHİNDURAN<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>*Prof. Dr., Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Burdur, Türkiye.*

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7718-2020>

**ÖZET**

Diyaliz böbrek yetmezliği gelişmiş hayvanlarda oluşan sıvı elektrolit bozukluğu, üremi ve hidrojen iyonunun dengesizliği durumlarında homeostazisin düzenlenmesine yardımcı olarak toksik maddeleri vücuttan uzaklaştırır. Periton diyalizi ve hemodiyaliz iki farklı uygulama yöntemidir. Periton diyalizi kanama ve dolaşım bozukluğu gözükten hastalarda hemodiyaliz yangısal durumlarda tercih edilmelidir. Periton diyalizi böbrek hasarının yanı sıra toksikasyon, metabolik bozukluklar ve şiddetli ateşte de uygulanabilir. Periton diyalizi periton kapiller damarları ve diyalizat arasındaki geçiş için peritonu kullanırken hemodiyaliz, hastanın kanının ekstrakorporeal dolaşımını kullanır. Diyaliz, difüzyon , ultrafiltrasyon ve konveksiyon yoluyla gerçekleşir. İdeal kateter sızıntı veya enfeksiyon oluşturmadan hızlı diyalizat akış hızı sağlamalıdır. Kateterlerin çoğu silikon, elastomer veya poliüretandan üretilir. Kateter aseptik koşullarda yerleştirilmelidir. Hemodiyalizde kateter hafif sedasyon altında vena jugularis'e yerleştirilirken periton diyalizinde mini cerrahi, trokar, Seldinger tekniği veya laparoskopik yerleştirme yapılabilir. Diyalizat olarak hiperozmolar kristaloid solüsyonlar kullanılır. Bu amaçla genellikle %1,5 dekstroz, %2,5 Dekstroz veya %4.25 dekstroz diyalizat solüsyonları kullanılır. İlk birkaç tedavi hastanın kan üre azotu(BUN) seviyesini ve böbrek fonksiyonu akut böbrek yetmezliğinde fonksiyon düzeline kadar, kronik böbrek yetmezliğinde ise süresiz olarak haftada 2-3 kez tedavi yapılmalıdır. Kateter yerleştirildikten sonra ilk 24-48 saat boyunca verilen diyalizat hesaplanan ideal hacmin yarısı kadar verilmelidir. İlk 24 saatten sonra 30-40 ml/kg dozda 10 dk infüze edilir. Makul BUN değeri 21.4–35.7 mmol/L (60–100 mg/dL), serum kreatinin değeri ise 353.6–540.4 mol/L(4.0–6.0 mg/dL)'dir. Diyalizin birkaç komplikasyonu olabilir. Bunlar hemodiyalizde hipotansiyon, pulmoner ödem, pleural efüzyon; periton diyalizinde, sızıntılar, hipoaübünemi, peritonit dispne ve elektrolit anormalliklerdir. Sonuç olarak kateter yerleşimi, hastanın monitörizasyonu ve komplikasyonlar açısından dikkatlice izlenmesi gereken bir prosedür olan diyaliz, böbrek hastalığı olan hayvanlara geleneksel tedaviden daha fazla olanağı sağlar.

**Anahtar Kelimeler:** Diyaliz, Hemodiyaliz, Periton Diyalizi, Kedi, Köpek

**ABSTRACT**

Dialysis removes toxic substances from the body by helping to regulate homeostasis in cases of fluid electrolyte disorder, uremia and hydrogen ion imbalance in animals with kidney failure. Peritoneal dialysis and hemodialysis are two different application methods. Peritoneal dialysis should be preferred in patients with bleeding and circulatory disorders, hemodialysis in inflammatory conditions. Peritoneal dialysis can be applied in addition to kidney damage, intoxication, metabolic disorders and severe fever. While peritoneal dialysis uses the peritoneum for passage between the dialysate and the peritoneal capillaries, hemodialysis uses the extracorporeal circulation of the patient's blood. Dialysis takes place by diffusion, ultrafiltration and convection. The ideal catheter should provide a rapid dialysate flow rate

without leaking or infection. Most catheters are manufactured from silicone, elastomer or polyurethane. The catheter should be placed under aseptic conditions. In hemodialysis, the catheter is placed into the vena jugularis under mild sedation, while mini-surgery, trocar, Seldinger technique or laparoscopic placement can be performed in peritoneal dialysis. Hyperosmolar crystalloid solutions are used as dialysate. For this purpose, generally 1.5% dextrose, 2.5% dextrose or 4.25% dextrose dialysate solutions are used. The first few treatments should be performed until the patient's blood urea nitrogen (BUN) level and kidney function improve in acute renal failure, and 2-3 times a week indefinitely in chronic renal failure. The dialysate given during the first 24-48 hours after the catheter is placed should be given half of the calculated ideal volume. After the first 24 hours, it is infused at a dose of 30-40 ml/kg for 10 minutes. A reasonable BUN value is 21.4–35.7 mmol/L (60–100 mg/dL), and serum creatinine value is 353.6–540.4 mol/L (4.0–6.0 mg/dL). Dialysis can have several complications. These are hypotension in hemodialysis, pulmonary edema, pleural effusion; In peritoneal dialysis, leaks, hypoalbuminemia, peritonitis, dyspnea, and electrolyte abnormalities are. In conclusion, dialysis, a procedure that requires catheter placement, patient monitoring, and careful monitoring for complications, provides more possibilities for animals with kidney disease than conventional treatment.

**Keywords:** Dialysis, Peritoneal dialysis, Haemodialysis, Cat, Dog

## 1.GİRİŞ

Diyaliz, böbrek yetmezliğinin oluşması sonucu ortaya çıkan hidrojen iyonunun dengesizliği, sıvı elektrik bozukluğu ve üremi durumlarında, böbreğin endokrin fonksiyonlarının yerini alarak hastanın homeostazisinin düzenlenmesine yardımcı olur. Temel olarak hastanın hayatını tehlikeye sokan ve fizyolojik yapılarını bozan toksik maddeleri vücuttan uzaklaştırır (Kırmızıgül & Kalınbacak 2004). Diyaliz, böbrek yetmezliğinde azotemi ve sıvı elektrolit bozukluğunun tedaviyle hafifletilemediği veya diürezin sağlanamadığı zamanlarda yapılmalıdır (Kalınbacak & Kırmızıgül, 2005).

Periton diyalizi ve hemodiyaliz uygulama yöntemleri farklı olsa da uygulanan en yaygın diyaliz teknikleridir (Mehrotra ve ark., 2016). Periton diyalizi kanama eğilimi olan hastalarda ve kalp ve dolaşım sistemi bozukluklarında tercih edilirken hemodiyaliz periton yangısı ve yangısal mide hastalıkları olan hastalarda tercih edilmektedir (Kırmızıgül & Kalınbacak, 2004).

## 2. HEMODİYALİZ

Hemodiyaliz yarı geçirgen bir zardan, seçici difüzyon ve ultrafiltrasyon yoluyla daha küçük moleküllerin daha büyük moleküllerden veya çözünmüş maddelerin koloidal parçacıklardan ayrılmasıdır. Diğer bir deyişle böbrek yetmezliği durumunda vücut dışındaki kandan kreatinin ve üre gibi artıkların ve serbest suyun uzaklaştırılmasıdır (Bhat, 2015). Hemodiyaliz, hemodiyalizör, hemodiyaliz makinesi ve kan tüpü (Ekstrakorporeal devre) kullanılarak gerçekleştirilir. Bu bileşenler ayrı ayrı kan ve diyalizat bölmesi oluşturur. Kan bölmesinde kan, hastadan gelen giriş hattıyla (arter) hemodiyalizöre pompalanır. Daha sonra hemodiyalizörde bulunan kılcal tüplerden geçerek bir çıkış tüpü (venler) aracılığıyla birlikte pozitif basınçla hastaya geri gönderilir. Diyalizat bölmesi, konsantr diyalizat ve bikarbonat çözeltilerinin yüksek oranda saflaştırılmış suyla seyreltildiği ve hastanın kanının bulunduğu kapiller tüpler arasındaki hemodiyalizörden ters akım yönünde pompalandığı tek geçişli bir sistemdir. Kullanılmış diyalizat daha sonra drene edilir. Hastanın kanı ve diyalizat hemodiyalizörde porlu, ince yarı geçirgen bir zar veya difüzyon kanalları ile ayrılır (Elliot, 2000). Su ve üre, kreatinin gibi küçük molekül ağırlıklı çözünenler difüzyon veya ultrafiltrasyon (konveksiyon) yoluyla zardan kolayca geçebilirken daha büyük çözünenlerin, plazma proteinlerinin ve kanın hücresel bileşenlerinin hareketi zardaki porların büyüklüğüne bağlıdır (Sargent & Gotch, 1979). Hemodiyalizde çözünen madde transferinin etkinliği, çözünen maddelerin difüzyon özellikleri, zarın yüzey alanı ve geçirgenliği, zardaki difüzyon eğilimleri, zarla temasta olan kanın hacmi ve ultrafiltrasyon hacmi tarafından yönetilir (Cowgill & Langston, 1996).

### 2.1 DİFÜZİF DİYALİZ

Diyaliz, moleküllerin yarı geçirgen zar boyunca yüksek konsantrasyonlu bir alandan düşük konsantrasyonlu bir alana difüze edilmesiyle gerçekleşir (Langston, 2022). Kandaki ve diyalizattaki çözünenler, ara yüz membranındaki gözeneklerle gelişigüzel olarak karşılaştığı için karşı tarafa



difüzyon kanalları yoluyla aktarılırlar. Çözünen maddenin difüzyon olabilecek bir gözenekle etkileşim olasılığı, moleküllerin aktivitesi ve çözünen konsantrasyonu ile artar. Moleküler hareket moleküler boyut ile ters orantılıdır. Üre ve kreatinin gibi küçük çözünenler B12 vitamini gibi daha büyük çözünenlerden daha hızlı yayılır. Bu sayede diyaliz sırasında ürenin plazma konsantrasyonu daha büyük çözünenlerden daha hızlı bir şekilde azalır.

Zarın bir tarafındaki çözünen yoğunluğu (örneğin üre) karşı taraftaki yoğunluğundan daha yüksekse, daha yüksek yoğunluktan daha düşük yoğunluğa zıt yönde olandan daha fazla çözünen hareketi meydana gelir, böylece konsantrasyon eğiminde net bir hareket sağlar (Cowgill & Langston, 1996). Diğer bir deyişle, üre ve kreatinin gibi küçük moleküler ağırlıklı üremik toksinler kan gibi daha yüksek konsantrasyonlu bölgeden diyalizat gibi daha düşük konsantrasyonlu bölgeye yayılır. Bikarbonat gibi tükenmiş çözünenler ise tersine diyalizattaki daha yüksek konsantrasyondan kandaki daha düşük konsantrasyona hareket etmesiyle yenilenebilir. (Elliot, 2000).

Difüzyon farklı çözeltilerde eşit yoğunluğa ulaşıncaya kadar dengesi sağlanır ve çözünen hareketi durur. Çözeltilerin sürekli olarak yenilenmesi filtrasyonun dengede kalmasına engel olur ve difüzyon eğimini koruyarak çözünen hareketini en üst seviyeye çıkarır. Bu prensiplerin yapay böbreğe uygulanmasıyla önemli elektrolitler korunurken üremiye neden olan toksinler uzaklaştırılabilir (Cowgill & Langston, 1996). Diyalizatın akışı genelde kan akış yönünün tersine yönlendirilir. Diyalizörün tepesine giren kanda yüksek yoğunlukta üremik toksin bulunur. Kan diyalizörün alt kısmından çıktığında büyük ölçüde üremik molekül uzaklaştırılmış olur böylece kandaki yoğunlukları düşer. Diyalizat ise genelde diyalizöre alttan girer. Başlangıçta sıfır yoğunlukta üremik toksin içeren diyalizat diyalizörün tepesinden çıkana kadar kandan artan miktarlarda toksin madde biriktirir (Langston, 2002).

## 2.2 ULTRAFİLTRASYON VE KONVEKTİF DİYALİZ

Ultrafiltrasyon suyun hidrostatik veya ozmotik basınç eğimleriyle birlikte membrandan yönlendirilmiş hareketini ifade eder (Henderson, 1996). Kan pompası, diyaliz membranının kan bölmesinde, membranın karşı tarafında diyalizatın akışı tarafından oluşturulan hidrostatik basınca karşı çıkan, dışa doğru yönlendirilmiş bir hidrostatik basınç oluşturur. Diyalizatörün kan bulunan tarafındaki ortalama basınçtan diyalizörün diyalizat bölmesindeki basınçın çıkarılmasıyla, membran boyunca hidrolik sıvı transferi için gerekli olan bir trans membran basıncı oluşur (Cowgill & Langston, 1996). Ultrafiltrasyon için gerekli olan transmembran basıncı hemodiyalizörün kan bölmesindeki kan pompası tarafından oluşturulan pozitif basınç ve diyalizat bölmesindeki bir vakum pompası tarafından üretilen negatif basınç tarafından belirlenir (Elliot, 2000). Ultrafiltrasyon hızı transmembran basıncının büyüklüğü ve diyaliz zarının hidrolik geçirgenliği ile belirlenir. Ultrafiltrasyonun plazma onkotik basıncına karşı olması nedeniyle ultrafiltrasyon için minimum 25 mmHg'lik bir transmembran basıncı gereklidir (Elliot, 2000). Diyalizörün ultrafiltrasyon kapasitesi, mmHg transmembran basıncı başına saatte aktarılan mililitre sıvı sayısı olarak ultrafiltrasyon katsayısı (kUf) ile ifade edilir (Cowgill & Langston, 1996). Yüksek akışlı yapay membran diyalizörleri çok yüksek kUf özelliklerine sahiptir. Diyalizin her saatinde litrelerce fazla sıvıyı uzaklaştırma yeteneğine sahiptir. Ultrafiltrasyon ile uzaklaştırılan sıvı, diyaliz zarına nüfuz edebilen çözünmüş çözünen maddeleri "çözünen sürüklemesi" ile birlikte taşır (Henderson, 1996). Bu işleme konvektif diyaliz denir. Konvektif diyaliz ultrafiltrasyon uygulanan hastalarda özellikle daha büyük ağırlığa sahip olan çözünenler başta olmak üzere çözünen uzaklaştırma etkinliğini büyük ölçüde artırır. Konvektif diyaliz, membran boyunca var olabilen difüzyon eğiminden bağımsız olarak gerçekleşir (Cowgill & Langston, 1996).

## 2.3 VASKÜLER ERİŞİM

Diyalizöre kan vermek ve temizlenen kanı hayvana geri vermek için vasküler erişim gereklidir (Cowgill & Langston, 1996). Fakat hemodiyalizde kan temizleme işlemi yapılacağı için vasküler erişimin güvenilir olması gerekir. Transkutöz (Çift lümenli) venöz kateterler, vasküler erişim için yeni ve daha çok istenen seçim olmaya başlamıştır. Bu amaçla vena jugularis'e yerleştirilen kateterler kullanılır. (Langston, 2002). Kateter cerrahi olarak vena jugularis externa'ya yerleştirilerek sağ atriyum veya vena cava cranialis'e ilerletilir. Kateterler bazen konumu sabitlemek için veya damardan çıkmasını önlemek için Dacron manşet içerebilir (Elliot, 2000). Vena jugularis externa kedilerde kateteri peruktan olarak yerleştirmek için çok küçüktür (Cowgill & Langston, 1996). Orta ve büyük ırk köpeklerde 11,5 Fr (French) boyutundaki çapında çift lümenli geçici hemodiyaliz kateteriyle geçici olarak erişim

sağlanabilir. Ve 2-6 hafta işlevselliğini korur. Kedilerde ise peruktan olarak 5,5 Fr boyutundaki veya 7 Fr boyutundaki çapında çift lümenli bir katater geçici erişim için yerleştirilebilir. 5,5 Fr boyutundaki çapındaki kataterden geçen kan akış hızının (5 ila 10 ml/dak) son derece sınırlı olması nedeniyle bu katater tedavi için yalnızca bir veya iki kere kullanılabilir. 7 Fr boyutundaki çapındaki katater ise daha iyi olmasına rağmen nispeten sınırlı kan akış hızı sağlar (Langston, 2002). Geçici kataterler, bir hasta anestezi uygulanamayacak kadar dengesizse, hızlı erişim isteniyorsa veya sadece birkaç kez tedavi edilecekse avantajlıdır. Ancak 4-5 saatlik tedavi süresinde maksimum toksin uzaklaştırılmasına izin vermek için gereken hızlı kan akışı (20 ml/kg/dk) sağlanamaz. Daha etkili tedavi veya birkaç haftadan uzun sürecek tedaviler için kalıcı kataterler kullanılmalıdır. Kateter, cilt çıkış yeri enfeksiyonlarını ve bakteriyemi riskini azaltmak için bir kısmı subkutan olarak tünel oluşturacak şekilde yerleştirilir. Uzun süreli veya yarı kalıcı kataterler, minimal düzeyde trombojenik olan yumuşak, silikon bir materyalden yapılmıştır. Orta ve büyük ırk köpeklerde en sık yaklaşık 15 Fr boyutundaki çapında oval katater kullanılırken kedi ve küçük ırk köpeklerde 8 Fr boyutundaki çapındaki pediatrik kataterler kullanılır. Bu kataterler 1-2 yıl yerinde kalabilir (Langston, 2002). Hemodiyaliz amacıyla yerleştirilen tüm kataterler fiziksel hasarı, tıkanmayı, enfeksiyonu önlemek ve yeterli kan akışını sağlamak için her zaman aseptik tutulmalıdır (Elliot, 2000). Kan numunesi almak veya sıvı veya ilaç vermek için kullanılmamalıdır (Langston, 2002). Tedavi saatleri arasında intraluminal trombozu önlemek ve kataterin lümenini doldurmak için heparin damlatılır ve tedaviler arasında oklüzyonları engellemek için yerinde bırakılır (Elliot, 2000). Heparin kilidi diyaliz programından bağımsız olarak her 3-4 günde bir değiştirilmelidir (Cowgill & Langston, 1996). İntravasküler trombozu azaltmak amacıyla köpeklerde her 24 saatte bir, kedilerde 48 saatte bir aspirin 5mg/kg olarak uygulanabilir (Elliot, 2000). Transkutanöz venöz kataterler uygun şekilde bakımı yapıldığı takdirde aylarca hizmet verebilir. Eğer fiziksel olarak hasar görürlerse, tıkanırlarsa veya enfekte olurlarsa değiştirilmelidirler (Cowgill & Langston, 1996).

#### 2.4 HEMODİYALİZÖRLER (YAPAY BÖBREKLER)

Diyalizörler boyut ve membran bileşimi bakımından farklılık gösterir. Daha büyük diyalizörler daha büyük bir membran yüzey alanına sahiptir (Langston, 2002). Hemodiyalizörler içi boş fiber veya paralel plaka olmak üzere fiziksel tasarımlarına ve bileşim, yüzey alanı, doldurma hacmi, hidrolik geçirgenlik ve biyouyumluluk gibi membran özelliklerine göre sınıflandırılır. İçi boş fiber diyalizörler içi boş, kapiller boru demetlerinden oluşur (Elliot, 2000). Genellikle içinde binlerce içi boş lif içeren yarı geçirgen bir zara sahiptir. Kan liflerin merkezinden geçerken üremik atıklar, zardan lifleri çevreleyen sıvıya yani diyalizata yayılır. Küçük moleküller ve su, zardaki gözeneklerden difüzyonla geçebilirken protein ve hücreler, kan bölmesinde kalır. Böylece birim zaman başına daha fazla diyaliz yapılabileceği anlamına gelir ancak gereken kan hacmi de artar (Langston, 2002). İçi boş fiber tasarımlar geniş bir yüzey alanı/kan hacim oranı ve düşük kan akış direnci sağlar. Kılcal duvarın inceliği ve gözenekliliği etkin çözünen madde difüzyonunu ve ultrafiltrasyon için gereken yüksek transmembran basıncını sağlar.

Membran tipi olarak genelinde selülozik ve sentetik tipler olmak üzere ikiye ayrılırlar. Sentetik polimer membranlar yüksek geçirgenliğe ve hidrolik özelliklere sahiptir ve son derece biyouyumlu kabul edilir. Bu özellikler sayesinde diyaliz tedavi sürelerini kısaltmasını sağlar (Elliot, 2000). Büyük gözeneklere sahip oldukları için orta büyüklükteki molekülleri daha iyi temizler (Langston, 2002). Fakat nispeten pahalıdır ve uygun maliyetli olmaları için tekrar tekrar kullanılmaları gerekir. Selülozik membranlar kimyasal olarak modifiye edilmiş selülozdan yapılır. Sentetik membranlara göre ucuzdurlar, küçük molekül ağırlığı olan çözünenler için iyi difüzyon özelliklerine sahiptirler. Daha düşük ultrafiltrasyon katsayılarına sahiptirler ve sentetik membranlara göre daha biyoreaktiflerdir (Elliot, 2000). Bu da daha fazla yangısal yanıt oluşturmaları anlamına gelir (Langston, 2002).

#### 2.5 REÇETE EDİLMESİ

Diyaliz reçetesinde dikkate alınması gereken faktörler istenen tedavi süresi, kan akış hızı, diyalizat akış hızı, diyalizat parametreleri ve ultrafiltrasyon hacmi gibi parametrelerdir ve her hastanın ihtiyaçlarına göre uyarlanır (Elliot, 2000). Genel olarak ilk iki ila üç diyaliz tedavisi hastanın tedavi nedeniyle oluşan değişikliklere ayak uydurabilmesi için kısaltılır. İlk tedavinin amacı kan üre azotunun (BUN) seviyesini %25-33 oranında azaltmaktır. Bunu sağlamak için 5 ml/kg/dk kan akış hızında 1,5-2 saatlik diyaliz yapılması gerekir.

İkinci tedavi daha uzun olmakla beraber genellikle 3 saat civarında sürer ve kan akış hızınının 10 ml/kg/dk olması gerekir. Bu tedavide BUN %50 civarında azalır. Hasta üçüncü veya dördüncü tedavilerde köpeklerde 5, kedilerde ise 4 saat olan standart bir tedavi için yeterince stabil hale gelmiş olur. Kan akışı köpeklerde maksimumum 500 ml/dk'ya kedilerde ise 125 ml /dk'ya kadar çıkabilir. Ortalama değer 15-20 ml/dk'dır. İlk birkaç tedavi hastanın BUN seviyesini ve sıvı elektrolit dengesini normalleştirdikten sonra akut böbrek yetmezliği durumunda böbrek fonksiyonu düzeline kadar, kronik böbrek yetmezliği durumunda ise süresiz olarak haftada üç kez tedavi yapılır. Akut böbrek yetmezliği geçiren hayvanlarda böbrek fonksiyonları düzelebileceğinden haftada iki kez tedavi yeterli olabilir. Diyaliz sırasında sedasyon gerekmez (Langston, 2002).

Uzaklaştırılan üre miktarı diyaliz tedavisinin süresinden çok doğrudan diyalizör zarına maruz kalan kan miktarıyla ilişkilidir (Langston & Cowgill, 1997). Kedi gibi küçük hastalar ve şiddetli üremisi (BUN seviyesi 150 mg/dl'den büyük olanlar) olan hastalar gibi çözünen maddenin hızlı bir şekilde ortamdan uzaklaştırılmasıyla ilgili komplikasyon riski yüksek olan hastalarda daha uzun bir süre daha yavaş kan akış hızı kullanmak komplikasyonları en aza indirirken istenen üre miktarını ortadan kaldırır (Cowgill & Langston, 1996).

Ekstrakorporeal devrede pıhtılaşmayı önlemek için heparin tedaviden hemen önce bolus olarak uygulanır ve tedavi sırasında sabit hızlı infüzyon şeklinde devam eder. Doz, normal değer 1,5-2 katı bir aktive olmuş pıhtılaşma süresi (APS) elde edecek şekilde ayarlanır. APS heparin infüzyonuna rehber olması için hem tedavi öncesi hem de tedavi sırasında rutin olarak ölçülür. Her tedavi öncesi ve sonrası vücut ağırlığı, vücut sıcaklığı, PCV, BUN, kreatinin ayrıca tedavi sırasında kan basıncı, nabız, APS gibi değerler rutin olarak ölçülmelidir. Solunum hızı, oksijen doygunluğu, kan hacmi değişiklikleri gibi diğer parametreler hastanın bireysel durumuna ve ekipmanın elverişliliğine göre gerektiği gibi izlenmelidir (Langston, 2002).

Diyalize bağlı hipotansiyonu önlemek için diyaliz seansının ilk 30 dakikasında kan akış hızı yavaşça artırılmalıdır. Serum kreatinin konsantrasyonları 5 ile 8 mg/dL arasında olan hastalarda diyaliz işlemi haftada iki kere yapmak yararlıdır. Serum kreatinin konsantrasyonları 8 mg/dL'nin üstünde olan hastalarda ise haftada 3 kez yapılması daha yararlı olur. Kediler ve 10 kg'dan hafif küçük köpekler için hemodinamik krizi en aza indirmek için hazırlayıcı solüsyon olarak %3 dekstran 70 kullanılır. 10 kg'dan daha ağır köpekler için standart hazırlama solüsyonu izotonik NaCl'dir (Elliot, 2000).

## 2.6 KOMPLİKASYONLAR

Hemodiyaliz, kritik durumu olan hastalarda uygulanan karmaşık teknikler içeren bir prosedür olduğundan prosedürün kendisine veya altta yatan üremiye bağlı olabilecek hipotansiyon, diyaliz dengesizliği, solunum fonksiyon bozukluğu, kanama gibi birçok sayıda potansiyel komplikasyon vardır. Hemodiyaliz sırasında hipotansiyona neden olabilecek çeşitli sebepler vardır. Bu nedenle diyaliz sırasında plazma ozmolalitesinin korunması diyalizin hipotansiyona sebep olmasını önlemek için esastır. Her tedavinin başlangıcında ekstrakorporeal dolaşım esnasında hastadan 60 ila 200 ml kan yani kan hacminin %30'una kadar kan uzaklaştırıldığı için özellikle küçük ırk hastalarda kan basıncında düşüş beklenir. Kan basıncını korumak amacıyla alınan kanın yerine eşit hacimde, orta veya büyük ırk köpeklerde %0,9'luk izotonik veya küçük ırk köpeklerde ve kedilerde %3 dekstran ile değiştirilir (Langston, 2002).

Merkezi sinir sistemi(MSS). anormallikleri, diyaliz dengesizliği ve üremik ensefalopatiyi içerir. Diyaliz dengesizliği, şiddetli azotemik hastalarda hızlı diyalizin neden olduğu bir sendromdur. Patogenezi tam olarak karakterize edilemese de serebral ödem gelişimine sekonder olarak ortaya çıkar. Üre ve hidrojen iyonlarının MSS'ye göre hücre dışı sıvıdan ve intravenöz boşluklardan orantısız mobilizasyonu, araya giren su akışıyla birlikte ozmotik bir eğime neden olarak serebral ödeme ve paradoksal serebral asidoza yol açar. Paradoksal serebral asidoz, beyinde idiyojenik ozmollerin indüklenmesiyle birlikte ozmotik eğimi şiddetlendirmesi ve beynin daha fazla şişmesine neden olur (Andrew, 1991) Diyaliz dengesizliği ise azoteminin en yüksek olduğu ilk tedaviler sırasında ağırlıklı olarak kedi ve küçük ırk köpeklerde görülür. Belirtiler diyaliz sırasında veya 24 saate kadar ortaya çıkabilir. Belirtiler arasında; titreme, huzursuzluk, ses çıkarma, nöbetler ve komadır. Plazma ozmolalitesini artırmak ve ozmotik eğimi dağıtmak için damar içi mannitol, nöbetleri azaltmak için diazepam uygulanabilir. Ayrıca diyaliz tedavisi yavaşlatılabilir veya kesilebilir (Cowgill & Langston,

1996). Ayrıca hemodiyaliz hastalarında solunum fonksiyon bozukluğunu tetikleyen birçok faktör vardır. Oligürik hastalarda pulmoner ödem ve pleural efüzyon sık görülür. Çok miktarda pleural efüzyon torakosentez ile daha iyi bir şekilde tedavi edilebilse de hemodiyaliz de bu durumları düzeltmek için kullanılabilir (Langston, 2002). Üremik pnömoni, üremik toksinlerin pulmoner kılcal damarların geçirgenliğini doğrudan etkileyerek alveolere ve pulmoner interstisyuma proteinden zengin bir sıvının sızmasına neden olması sonucu oluşur (Bleyl ve ark., 1981; Rackow ve ark., 1978). Hafif ve şiddetli solunum bozukluğuna sebep olmakla birlikte hemodiyalizle düzeltilebilir (Langston, 2002). Kateter tarafından indüklenen trombosit agregasyonu ve trombüs oluşumundan kaynaklanan pulmoner tromboembolizm, diyaliz tedavileri arasında dispneye neden olabilir (Cowgill & Langston, 1996). Silikon hemodiyaliz kateterleri diğer malzemelerden yapılan kateterler gibi trombojenik olmasa da herhangi bir intravasküler implantasyon tromboz riski taşır. Trombosit aktivasyonunu azaltmak ve bu sayede trombüs oluşumunu en aza indirmek amacıyla genellikle düşük doz aspirin verilir (Langston, 2002). Makinelere kaynaklı hava embolisi, uygun olmayan diyalizat hazırlanması gibi teknik sorunlara nadiren rastlanır (Cowgill & Langston, 1996).

### 3. PERİTON DİYALİZİ

Periton diyalizi(PD) periton kılcal damarlarındaki kan ile periton boşluğuna verilen diyalizat arasında çözünmüş maddelerin ve suyu hareket ettirmek için peritonu yarı geçirgen bir zar olarak kullanma işlemidir (Cooper & Labato, 2011). Periton diyalizi en çok akut böbrek hasarı tedavisinde kullanılsa da metabolik bozukluklarda, etilen glikol, etanol, barbitüratlar gibi diyalize edilebilir maddelerle akut zehirlenmede ve şiddetli ateşte de kullanılabilir (Dzyban ve ark., 2000). Peritoneal diyaliz karın içine kapalı bir toplama sistemine bağlı kateterin yerleştirilmesiyle gerçekleşir. Karın içine önceden belirlenmiş bir süre zarfında diyalizat verilir ve daha sonra çıkarılır. Diyalizat klinikte hazırlanabilir veya satın alınabilir. Standart ticari diyalizatlar üre, kreatinin, potasyum ve fosfatı difüzyonla plazmadan diyalizata çıkarmak için tasarlanmıştır. Diyalizatlar hastanın sıvı dengesine bağlı olarak farklı ozmolalitelere sahip olabilir (Cooper & Labato, 2011). Kanda daha yüksek seviyelerde bulunan atık ürünler periton boyunca diyalizata yayılır ve her sıvı değişiminde uzaklaştırılır. Periton diyalizinde sıvı ve çözünen maddelerin peritoneal membrandan taşıdığı mekanizmalar difüzyon, konveksiyon ve ultrafiltrasyondur (Blowey, 2005).

#### 3.1 PERİTONEAL ERİŞİM

##### 3.1.1 KATATER SEÇİMİ

İdeal katater, sızıntı veya enfeksiyon olmadan hızlı diyalizat akış hızı sağlar (Gokal ve ark., 1998). Veteriner hekimlikte ideal bir katater tipi oluşturulamamıştır. Kateterlerin çoğu, silikon elastomer veya poliüretandan üretilir. Kateterler diyaliz esnasında diyaliz sıvısının dışarı akışına izin vermek amacıyla birçok yan deliğe sahiptir (Bersenas, 2011). Bazen kateterin yanlış yerleştirilmesi, kıvrılma, tıkanma, pıhtı oluşumu gibi başarısızlıklar meydana gelebilir ve bu başarısızlıklar genellikle erken sızıntıya sebep olur.

##### 3.1.2 KATETER YERLEŞTİRME

Periton diyalizi için kateter yerleştirme işlemi birkaç teknik içerir. Bunlar, mini cerrahi yaklaşım, trokar veya kılavuz tel kullanarak kör peruktan yerleştirme tekniği (Seldinger tekniği) veya laparoskopik yerleştirme ile doğrudan görüntüleme teknikleridir. Laparoskopik yerleştirme veteriner hekimlikte değerlendirilmemiştir. Kateter yerleştirme işlemi, katı aseptik teknikler kullanarak tercihen ameliyathanede gerçekleştirilir. Kateter yerleştirilirken mesanede travmayı önlemek amacıyla her zaman diyaliz için kateter yerleştirmeden önce idrar sondası yerleştirilmelidir. Periton diyalizine ihtiyaç duyan hastanın çoğu zihinsel olarak depresiftir ve kateter yerleştirme tekniği ne olursa olsun hafif sedasyon ve lokal anestezi sıklıkla yeterlidir. Peritoneal kateterin ve sistemin kontaminasyonunu önlemek için hayvanın örtülü olması ve asepsi kurallarına uyulması önem taşır. Hasta lateral veya dorsal pozisyondayken karın xiphoid'den pubise doğru klipslenir ve cerrahi olarak hazırlanır (Bersenas, 2011). Beşeri hekimlikte kateterin yerleştirilmesinden önce profilaksi amacıyla birinci kuşak bir sefalosporinin (Örn. Sefazolin) uygulanması tavsiye edilir (Flanigan & Gokal, 2005). Bu uygulama veteriner hekimlikte yaygın değildir. (Bersenas, 2011). Ayrıca beşeri hekimlikte peritonit insidansını azaltmak ve diyalizat sızıntısı riskini azaltmak amacıyla her türlü kateter yerleşimi için deri altı bir tünel önerilmiştir (Flanigan & Gokal, 2005). Bu uygulama veteriner hastalarda da teşvik edilmelidir. Lidokain

analjezi için cilde, abdominal giriş yerlerinde ve planlanan subkutan tünel boyunca enjekte edilir. Diyaliz kateterinin peruktan olarak yerleştirilmesi trokarlı bir kateter kullanılarak veya intraabdominal peritoneal diyaliz kateterlerinin yerleştirilmesi için Modifiye edilmiş Seldinger tekniğiyle gerçekleştirilebilir. (Bersenas, 2011).

Kateter karına orta hattan veya göbek deliği seviyesinden paramedian bir yaklaşımla girebilir (Stripolli ve ark., 2004). Beşeri hekimlikte trokar girişi için linea alba boyunca orta hattan bir yaklaşım önerilmiştir (Gokal ve ark., 1998). Bistüriyle deriye küçük bir kesi atılır. Trokarı abdomen içine ilerletmek, eldivenli baskın olmayan eli bir koruyucu olarak kullanmak ve karın organlarının kazara yırtılmasını engellemek amacıyla trokarın abdomene içine yalnızca 1-2 cm girmesine izin vermek için yeterli miktarda basınç uygulamak gerekir. Abdomene girdikten sonra kateter stileden abdomen içine ilerletilir ve kaudal yönde yönlendirilir ve alt pelvise yerleştirilir. Kateter abdomen içine yerleştirildikten sonra kateterin distal ucunun subkutan dokular içinde tünel açma işlemi yapılır. Yaklaşık 5 ml diyalizat gönderilerek ve kolayca geri çekilmesini sağlayarak, kateteri sabitlemeden önce kateterin açık olduğuna emin olunmalıdır. Kateter, tüten kesesi dikişle sabitlenebilir. Seçilen teknik mini cerrahi tekniği olduğunda, abdominal penetrasyon umbilicus hizasında rektus kası boyunca orta hattın yaklaşık 3-5 cm sağında olmalıdır. Hasta dorsal pozisyondayken planlanan ve bloke edilen karın giriş bölgesinin hemen üzerinde 3-5 cm'lik bir primer paramedian subkutan kesi yapılır. Vücut duvarının manipülasyonuna izin vermek amacıyla rektus kılıfına geçici bir dikiş atılarak rektus kasından abdominal boşluğa 2-3 cm'lik bir kesi atılır. Peritonun Parietal kısmı belirlenir ve kesilir. Parietal periton orta hattın dışında, vücut duvarından ayrı olduğu için ve ayrıca kateterin periton ile kas arasına yanlışlıkla yerleştirme olasılığı olduğundan operasyonu gerçekleştiren kişi abdominal boşluğa tam penetrasyon olduğundan emin olmalıdır (Bersenas, 2011).

Kateter yerleştirildikten sonra kapalı Y bağlantısı sisteme bağlanır (Dzyban ve ark., 2000). Alternatif olarak 3 yollu musluk ve intravenöz sıvı setleri kullanılarak kapalı Y bağlantısı elde edilebilir. Kateter diyalizat hattına bir luer kilit adaptörü ve steril bir toplama sistemine bağlı ikinci hat ile 3 yollu musluğa takılır (Bersenas, 2011). İşleme başlamadan önce "doldurmadan önce yıkama" tekniğinin yapılması önerilir. Bu teknikte, her yeni bir diyalizat torbası takıldığında hastaya diyalizat infüzyonundan önce hattın herhangi bir bakteriyel kontaminasyonunu engellemesi için diyalizatın bir kısmı sisteme boşaltılır (Dzyban ve ark., 2000). Tüm torba değişimlerinde aseptik teknik izlenmelidir (Bersenas, 2011).

### 3.2 DİYALİZAT SOLÜSYONLARI

Diyalizat solüsyonları difüzyon tamponu ve magnezyum ve kalsiyum gibi diğer gerekli bileşikleri sağlarken, plazmadan sıvı, potasyum, üre ve fosfatı diyalizata çekmek için tasarlanmış tamponlu hafif hiperozmolar kristaloid solüsyonlardır (Labato, 2000). Biriktirme sırasında bikarbonat ve kalsiyum çökebileceğinden tampon olarak laktat kullanılır (Ross & Labato, 2013). Hipertonik dekstroz içeren diyalizat solüsyonları aşırı hidrate hastalarda ödemi en aza indirmekte ve tüm hastalarda ultrafiltrasyonu artırmakta etkilidir. Dehidre ve normovolemik hastalarda genellikle %1,5 dekstroz kullanılır (Ross & Labato, 2013). Orta ve ileri derecede hidrate hastalarda ise %2,5 ve %4,25 dekstroz diyalizat solüsyonları kullanılır. Kateterde fibrin birikmesini önlemek amacıyla kateter yerleştirildikten sonraki ilk birkaç gün diyalizata heparin eklenmelidir. (Labato, 2000).. Heparin hatsanın dolaşımı tarafından minimum düzeyde emilir ve pıhtılaşma süresini uzatma olasılığı düşüktür (Dzyban ve ark., 2000).

Küçük hayvanlar için önerilen infüzyon hacmi 30-40 ml/kg'dir. Peritonun geçirgenliğini artırmak amacıyla diyalizat 38°C'ye ısıtılmalıdır. Laktatlı ringer solüsyonuna dekstroz eklenmesiyle uygun bir diyalizat solüsyonu yapılabilir. Osmalalite hastaninkine çok yakın olmalı ve dekstroz konsantrasyonu en az %1,5 olmalıdır (Labato, 2000).

### 3.3 SIVI DEĞİŞİM PROGRAMLARI

Kateter yerleştirildikten sonra ilk 24-48 saat boyunca abdominal distansiyonunun derecesini, solunum fonksiyonu üzerindeki etkiyi ve diyalizat sızıntısı potansiyelini değerlendirmek için değişim hacimleri hesaplanan ideal hacmin yarısı kadar olmalıdır (Labato, 2000). İlk 24 saatten sonra diyalizat 30-40 ml/kg dozda 10 dakika infüze edilir (Harris & Townsend 1989).

Diyaliz düz hatlı bir transfer seti ile gerçekleştirilebilse de kapalı bir transfer setinin kullanılması enfeksiyona yakalanma riskinin daha düşük oranlarla ilişkilendirilmiştir (Rippe, 2006). Kapalı "y"

sistemi, hatların her diyalizat infüzyonu öncesi sistemi dış havayla temas ettirmeden olası bir bakteriyel kontaminasyonun arındırılmasını sağlar. Bunun için kullanılmamış bir diyalizat torbası ve drenaj torbası bulunan bir “y” sistemi hortumu kateter hortumuna ya da transfer setine bağlanır. Önce az miktarda diyalizat drenaj torbasına boşaltılır. Daha sonra peritoneal boşluk drene edilir. Böylece bağlantı prosedürleri sırasında ortaya çıkabilen kontaminantlar peritoneal boşluğa değil, drenaj torbasına akar. Drenaj işleminden sonra taze diyalizat infüze edilir (Ross & Labato, 2013). Bu “önce boşalt sonra infüze et” ilkesi düz tek iğneli sistemde kullanılan “önce infüze et sonra boşalt” ilkesine kıyasla peritoneal diyaliz hastalarında peritonit insidansını belirgin şekilde azaltmıştır. Diyalizatın periton boşluğunda 30-40 dk kalmasına izin verilir ve ardından 20-30 dakikalık bir süre boyunca yerçekimi yardımıyla toplama torbasına boşaltılır (Ross & Labato, 2013). Diyalizatın %90-100’ünün geri kazanımı beklenmektedir (Labato, 2000). Bu işlem sürekli olarak tekrarlanır ve diyalizat formülü ve kalma süreleri hayvanın ihtiyacına göre 12-24 saatte bir ayarlanır (Ross & Labato, 2013). Çoğu vakada infüzyon hızı sorunsuz olur. Hayvan infüzyon sırasında rahatsızlık belirtileri gösteriyorsa sıvının çok soğuk veya çok sıcak olmadığından emin olunmalıdır. Ayrıca infüzyon hızı da yavaşlatılabilir (Labato, 2000).

Hayvan klinik olarak iyileşene, kan üre nitrojeni (BUN) ve serum kreatinin konsantrasyonları düşene ve aşırı hacim yükü düzeltilene kadar diyaliz döngüleri 1-2 saatte bir tekrarlanmalıdır. Bu şekilde yapılan yoğun diyalizler tipik olarak 24-48 saat sürer. Bu süreçte BUN ve kreatinin konsantrasyonları normal değerlerine getirilmeye çalışılmamalıdır. Makul olan BUN değeri 21.4–35.7 mmol/L (60–100 mg/dL), serum kreatinin değeri ise 353.6–540.4 mol/L(4.0–6.0 mg/dL)’dir. Daha sonra hayvan kronik bir diyaliz programına geçirilebilir. Kronik bir diyaliz programında diyalizat abdomende 3-6 saat kalabilir. Günde 3-4 değişim yapılmalıdır. Bu uzun değişim periyotları sırasında diyalizat abdomende kalmalıdır. Değişim sıklığı ve bekleme süresi hayvanın bireysel ihtiyaçlarına göre ayarlanır. Böbrek yetmezliği olan bir hayvanda periton diyalizinin amacı BUN konsantrasyonunu 24.9 mmol/L ( $\leq 70$  mg/dL)’nin altında tutmak için yeterli miktarda üreyi uzaklaştırmaktır. Diyaliz, böbrek fonksiyonu normale dönene kadar veya idrar çıkışı ve kan değerlerinin stabilizasyonu sağlanana kadar sürdürülmelidir. Değişim sayısının kademeli olarak azaltılması ve değişim yapılmayan dönemlerin olması önerilir. Bu aralıklı periton diyalizi hastanın klinik durumunun sürekli olarak değerlendirilmesiyle 3-4 günlük süre içinde yapılmalıdır. Hasta poliürik hale gelirse değişimlerin kesilmesi hızlandırılabilir. Sürekli periton diyalizi yapılan hayvanda parametreler veya üremik belirtilerde iyileşme görülmezse kronik periton diyalizi, kronik hemodiyaliz, renal transplantasyon veya ötenazi düşünülmelidir (Ross & Labato, 2013).

### 3.4 KONTRENDİKASYONLARI VE KOMPLİKASYONLARI

Periton diyalizinin kontrendike olduğu durumlar da vardır. Bunlar insanlarda abdominal boşluk boyunca sıvı dağılımını önleyen peritoneal adezyonlar ve pleural efüzyon ve solunum yetmezliği ile sonuçlanabilecek plöroperitoneal sızıntılardır (Dzyban ve ark., 2000). Adezyonlar özellikle karın ameliyatı geçirmiş insanlarda yaygın olmakla birlikte kedi ve köpeklerde sık görülmezler (Chegini, 2002).

Diyaframatik hernisi veya perikardiyodiyafamatik hernisi olan hayvanlarda diyalizatın infüzyonu solunum ve kalp fonksiyon bozukluğuna sebep olabileceğinden bu gibi durumlarda periton diyalizi kontrendikedir (Ross & Labato, 2013).

Yakın zamanda karın veya göğüs ameliyatı geçirmiş, deri yanığı ya da soyulması gibi hiperkatabolik durumlarda da periton diyalizi kontrendikedir (Dzyban ve ark., 2000). Yakın zamanda karın ameliyatı geçirmiş hayvanlar artan karın basıncı ve kesi yerinden olabilecek sıvı sızıntısı nedeniyle diyaliz sırasında dikişlerin açılması veya enfeksiyon riski altındadır (Ross & Labato, 2013). Abdominal basıncın artmasına eşlik eden katabolik hastalıklar diyaliz sırasında ortaya çıkabilen hipoalbüminemiye katkıda bulunur (Dzyban ve ark., 2000).

Periton diyalizinde komplikasyonlar da yaygın olarak görülür fakat erken fark edilir ve uygun şekilde tedavi edilirse yönetilebilir (Labato, 2000). En yaygın komplikasyonlar arasında kateter akış sorunları, çıkış yeri sızıntıları, hipoalbüminemi, peritonit, pleural efüzyon, artan abdominal basınca bağlı dispne, aşırı veya yetersiz hidrasyon ve elektrolit anormallikleri vardır (Cooper & Labato, 2011).

Dikkatli kateter yerleştirme ve yönetme komplikasyonları önlemek için önemli adımlardır. En yaygın ve önemli komplikasyonlardan biri olan hipoalbümineminin sebebi, düşük proteinli diyet,

gastrointestinal veya renal protein kaybı, diyalizat sıvısı kaybı, üremik katabolizma ve eşzamanlı hastalıklar gibi nedenlerin kombinasyonundan kaynaklanabilir (Dzyban ve ark., 2000).

### 3.5 ENDİKASYONLARI

Köpek ve kedilerde periton diyalizi için ilk ve en önemli endikasyon sıvı tedavisine dirençli anürik akut böbrek hasarındır (Cooper & Labato, 2011). Ayrıca, BUN değerinin 100 mg/dl'yi veya kreatinin değerinin 10 mg/dL'yi aştığı şiddetli akut üremisi olan anürik hastalarda da endike olabilir (Bhat, 2015). Periton diyalizi üroabdomen veya idrar yolu tıkanıklığı olan hastalarda ameliyat veya anestezi öncesinde stabil hale getirmek için de kullanılabilir (Dzyban ve ark., 2000). Çeşitli zehirlenmeler ve metabolik anormallikler için de kullanılabilir (Cooper & Labato, 2011). Etilen glikol, etanol, barbitüratlar gibi diyalize edilebilir toksinleri uzaklaştırmak için kullanılabilir. Bununla birlikte, periton diyalizi kandan toksinleri uzaklaştırmada hemodiyaliz kadar etkili değildir (Holubek ve ark., 2008). Hemodiyaliz veya hemofiltrasyonun mümkün olmadığı, vasküler erişimin zor olduğu veya dirençli hipotansiyonun hemodiyaliz işlemini yüksek riskli bir prosedür haline getirdiği durumlarda periton diyalize endike olabilir (Cooper & Labato, 2011). Periton diyalizi su ve çözünen madde anormalliklerini düzeltmede hemodiyalizden daha az etkilidir fakat terapötik olarak avantajlara sahiptir. Hiperkalsemi, hiperkalemi, hepatik ensefalopati ve dirençli metabolik asidoz gibi şiddetli metabolik bozukluklar da periton diyalizi ile düzeltilebilir. Hipertonik diyalizatlı periton diyalizi, kalp yetmezliği gibi hayatı tehdit eden aşırı sıvı yüklemesi olan hayvanlarda vücuttaki fazla sıvıyı gidermek için kullanılabilir (Dzyban ve ark., 2000).

### KAYNAKÇA

- Andrew, R. D. (1991). Seizure and acute osmotic change: clinical and neurophysiological aspects. *Journal of the neurological sciences*, 101(1), 7-18.
- Ann Dzyban L., Labato, M. A., Ross, L. A., & Murtaugh, R. J. (2000). Peritoneal dialysis: a tool in veterinary critical care. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 10(2), 91-102.
- Arieff, A. I. (1994). *Dialysis disequilibrium syndrome: Current Concepts on pathogenesis and prevention*. *Kidney International*, 45(3), 629-635.
- Bersenas, A. M. (2011). A clinical review of peritoneal dialysis. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 21(6), 605-617.
- Bhat, 2015, R. A. (2015). HAEMODIALYSIS IN SMALL ANIMALS. *Editorial Board*, 4(12), 159.
- Bleyl, U., Sander, E., & Schindler, T. (1981). The pathology and biology of uremic pneumonitis. *Intensive care medicine*, 7, 193-202.
- Blowey, D. L., & Alon, U. S. (2005). Dialysis principles for primary health-care providers. *Clinical pediatrics*, 44(1), 19-27.
- Carter, L. J., Wingfield, W. E., & Allen, T. A. (1989). Clinical experience with peritoneal dialysis in small animals. *The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian (USA)*.
- Chegini, N. (2002). Peritoneal molecular environment, adhesion formation and clinical implication. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 7(5), 91-115.
- Cooper, R. L., & Labato, M. A. (2011). Peritoneal dialysis in veterinary medicine. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 41(1), 91-113.
- Cowgill, L. D., & Langston, C. E. (1996). Role of hemodialysis in the management of dogs and cats with renal failure. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 26(6), 1347-1378.
- Elliott, D. A. (2000). Hemodialysis. *Clinical techniques in small animal practice*, 15(3), 136-148.
- Flanigan, M., & Gokal, R. (2005). Peritoneal catheters and exit-site practices toward optimum peritoneal access: a review of current developments. *Peritoneal Dialysis International*, 25(2), 132-139.
- Gokal, R., Alexander, S., Ash, S., Chen, T. W., Danielson, A., Holmes, C., & Vas, S. (1998). Peritoneal Catheters and Exit-Site Practices toward Optimum Peritoneal Access: 1998 Update: (Official Report from the International Society for Peritoneal Dialysis). *Peritoneal Dialysis International*, 18(1), 11-33.

- Harris, C. P., & Townsend, J. J. (1989). Dialysis disequilibrium syndrome. *Western Journal of Medicine*, 151(1), 52.
- Henderson, L. W. (1996). Biophysics of ultrafiltration and hemofiltration. *Replacement of renal function by dialysis*, 114-145.
- Holubek, W. J., Hoffman, R. S., Goldfarb, D. S., & Nelson, L. S. (2008). Use of hemodialysis and hemoperfusion in poisoned patients. *Kidney international*, 74(10), 1327-1334.
- Kalınbacak, A., & Kırmızıgül, A. H. (2005). Köpek ve kedilerin periton diyalizinde diyalizatın drenaj oranlarının ve üre, kreatinin doyumluklarının değerlendirilmesi. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 52(2), 105-108.
- Kırmızıgül, A. H., & Kalınbacak, A. (2004). Deneysel bilateral üreteral obstrüksiyon oluşturulan köpeklerde peritoneal diyaliz uygulamaları. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 51(3), 211-217.
- Labato, M. A. (2000). Peritoneal dialysis in emergency and critical care medicine. *Clinical techniques in small animal practice*, 15(3), 126-135.
- Langston, C. (2002). Hemodialysis in dogs and cats. *Compendium*, 24(7), 540-548.
- Langston, C. E., Cowgill, L. D., & Spano, J. A. (1997). Applications and outcome of hemodialysis in cats: a review of 29 cases. *Journal of veterinary internal medicine*, 11(6), 348-355.
- Mehrotra, R., Devuyt, O., Davies, S. J., & Johnson, D. W. (2016). The current state of peritoneal dialysis. *Journal of the American Society of Nephrology*, 27(11), 3238-3252.
- Rackow, E. C., Fein, I. A., Sprung, C., & Grodman, R. S. (1978). Uremic pulmonary edema. *The American journal of medicine*, 64(6), 1084-1088.
- Rippe, B. (2006). Peritoneal Dialysis: Principles, Techniques, and Adequacy. In *Comprehensive clinical nephrology* (p. 979-990). Elsevier.
- Ross, L. A., & Labato, M. A. (2013). Current techniques in peritoneal dialysis. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 23(2), 230-240.
- Sargent, J. A., & Gotch, F. A. (1979). Principles and biophysics of dialysis. *Replacement of renal function by dialysis*, 38-68.
- Strippoli, G. F., Tong, A., Johnson, D. W., Schena, F. P., & Craig, J. C. (2004). Catheter type, placement and insertion techniques for preventing peritonitis in peritoneal dialysis patients. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (4).



SULARIN BAKTERİYOLOJİK KALİTESİNDE *ESCHERICHIA COLI*  
*ESCHERICHIA COLI* IN THE BACTERIOLOGICAL QUALITY OF WATER

**Mustafa GÜRSES<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Prof. Dr., Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, ERZURUM

<sup>1</sup>ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6859-4085>

**Pınar ŞEKERCİ KELEŞ<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>Arş. Gör., Ardahan Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, ARDAHAN

<sup>2</sup>ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6225-4781>

## ÖZET

Yaşamsal için önemi düşünüldüğünde, içme sularının temiz olması ve içerisinde hastalık yapıcı bakterileri bulundurmaması gerekmektedir. Sularda rastlanan ve hastalık yaptığı bilinen bakterilerden belki de en önemlisi *Enterobacteriaceae* familyasında yer alan *Escherichia coli* (*E. coli*)'dir. Bulaşma yollarının bilinmesi, yayılmalarını önleyici tedbirlerin tam olarak anlaşılması ve bulaşma riskini azaltma yollarının tespiti insanların bu ve benzeri patojen mikroorganizmalardan korunmasında en önemli kriterlerdendir.

İçme sularında mikrobiyolojik kalitenin izlenmesi büyük ölçüde koliform grubu, *E. coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi indikatör bakterilerin incelenmesi esasına dayanmaktadır. *E. coli* koliform grubu bakterilerle ilişkili ve diğer koliform bakterilerden daha doğru bir fekal kontaminasyon göstergesi olup; sularda bulunması hastalıklara neden olan zararlı bakterilerin potansiyel varlığını, kirleticilerin kapsamını ve doğasını gösterir. *E. coli* suda 4 ile 12 hafta arasında yaşayabilir ve günümüzde basit, ucuz, hızlı, hassas ve kesin tespit tekniklerinin erişilebilirliği nedeniyle içme suyunda dışkı kontaminasyonunun bir göstergesi bakteri olarak kullanılmaktadır. Su kalitesinin sürekli izlenmesi gerekli olmakla beraber, çoğu patojen bakteri suşunu sınıflandırmak için yeterince teknik henüz mevcut değildir ve sonuçlara ulaşmak bazen günler veya haftalar alabilir. Bu zorlukların üstesinden gelmek için, belirli bakteri suşlarını tespit etmek, saymak ve tanımlamak için uygun maliyetli ve kısa süreli tekniklere ihtiyaç vardır.

Bu derlemede, *E. coli* ile fekal kirlilik arasındaki ilişki ve içme suyu sistemlerinde fekal kontaminasyonun bir göstergesi olarak kullanımı ve izlenmesinin sağladığı sonuçlarla birlikte bu bakterilerin çevredeki doğal mikrobiyal toplulukların aktif bir üyesi haline gelebileceğini ve mikrobiyal kaynakların takibi için nasıl kullanılabileceğini gösteren son çalışmalar tartışılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *E. coli*, su kalitesi, indikatör mikroorganizma, koliform bakteri

## 1. GİRİŞ

Su doğal bir kaynaktır ve yaşamın devamı için gereklidir. Taze temiz suyun erişilebilirliği ve mevcudiyeti, yalnızca ekonomik kalkınma ve sosyal refahta önemli bir rol oynamakla kalmaz, aynı zamanda sağlık, gıda üretimi ve yoksulluğun azaltılmasında da temel bir unsurdur. Su, vücudun iç organlarının nemini korumaya yardımcı olur; kan ve lenf gibi sıvıların normal hacmini ve kıvamını korur; vücut ısısını düzenler; idrar, ter ve nefes yoluyla vücuttan zehirleri veya toksinleri uzaklaştırır ve cildin normal yapısını ve fonksiyonlarını düzenlemek için gereklidir (Burton et al., 1987). Vücut her gün yaklaşık dört litre su kaybettiği için en az eşdeğer miktarda kaliteli su içerek bu hacmi yenilemek gerekir. Çevre koşulları bozulan gelişmekte olan ülkelerde, son zamanlarda temiz içme suyu temini talebi hızla artmaktadır (Gelover et al., 2006).

İçme suyunun mikrobiyolojik kalitesi tüketiciler, su tedarikçileri, düzenleyiciler ve benzer şekilde halk sağlığı otoriteleri için önemli bir endişe kaynağıdır. İçme suyunun mikrobiyal patojenleri çok sayıda

insana taşıyarak daha sonra hastalığa neden olma potansiyeli, ekonomik gelişmişliğin her düzeyindeki ülkelerde iyi bir şekilde belgelenmiştir (Dufour *et al.*2003). Suyla bulaşan bağırsak hastalıklarının çoğunun sporadik vakalar şeklinde olmadığı veya tespit edildiğinde bile suyla ilgili olarak tanımlanamayacağı belirtilmektedir (Issac-Renton *et al.*, 1996). Birkaç araştırmacı, dünya çapında suyla taşınan hastalıkların toplam yükünü tahmin etmek için yaptıkları çalışmada; su kaynaklı hastalıkların bağırsak enfeksiyonlarının üçte birinden sorumlu olduğunu rapor etmişlerdir (Hunter, 1997). Dünyada meydana gelen tüm ölümlerin %40'ından ve toplam hastalık yükünün %5,7'sinden su, sanitasyon ve hijyenin sorumlu olduğu tahmin edilmektedir (Pruss *et al.*,2002). İnsan, çiftlik hayvanları ve vahşi hayvanların tümü fekal bulaşma kaynaklarıdır. Genel olarak insan ve hayvan dışkı atığı, suyla bulaşan hastalık riskinin artmasına neden olmaktadır (Stephen and Joseph, 2013).

Suyun insan sağlığı bakımından kalitesinin göstergesi olarak bakterilerin kullanılması; muhtemelen Von Fritsch'in *Klebsiella pneumonia* ve *K. rhinoscleromatis*'i karakteristik olarak insan dışkısında bulunan mikroorganizmalar olarak tanımladığı 1880 yılına kadar uzanmaktadır. 1885'te Percy ve Grace Frankland, bakterileri saymak için Robert Koch'un katı jelatin besiyerini kullanarak Londra'da suyun ilk rutin bakteriyolojik incelemesini yapmışlardır. Yine 1885'te Escherich, *Bacillus coli*'yi tanımlamış ve adını *Escherichia coli* olarak değiştirmiştir. 1891'de Franklands, potansiyel olarak tehlikeli kirlilik kanıtı sağlamak için kanalizasyona özgü organizmaların tanımlanması gerektiği kavramını ortaya atmıştır. 1893'e gelindiğinde, sıhhi bakteriyologlar tarafından, tanısal bir özellik olarak laktozdan asit kavramı kullanılarak, su numunelerinin doğrudan turnusol laktoz agar üzerine kaplanması yoluyla *E. coli*'nin sayımına yönelik Wurtz yöntemi kullanılmaya başlanmıştır. Bunu, Durham tüpünün piyasaya sürülmesiyle gaz üretimi izlemiştir (Nicholas *et al.*, 2001). *E. coli*'ye benzeyen koliform bakteri kavramı, 1901'de Britanya'da kullanılmış ve bu nedenle, streptokok ve *C. perfringens* ile birlikte çeşitli koliformları bulmanın sağlık açısından önemi bakteriyologlar tarafından yirminci yüzyılın başlarında kabul edilmiştir. Bununla birlikte, koliformlar, çoğu dışkı kökenli olmayan heterojen bir mikroorganizma grubu olarak kabul ediliyordu. *E. coli*'nin büyük ölçüde dışkı kaynaklı olduğu, ancak diğer koliformların olmadığı şeklinde de görüşler vardı (Stephen and Joseph, 2013).

*Escherichia coli*, sıcakkanlı organizmaların (özellikle memeli hayvanların) kalın bağırsağında yaygın olarak bulunan gram negatif, çubuk şeklinde bir bakteridir. *E. coli* suşlarının çoğu zararsızdır fakat O157:H7 gibi bazı serotipleri insanlarda ciddi gıda zehirlenmelerine neden olabilmekte ve zaman zaman tüketime sunulan ürünlerin geri çağırılmasından sorumlu tutulabilmektedir (Stephen and Joseph, 2013).

*Escherichia coli*, insan kolonik normal florasının fakültatif anaerobik kısmının en baskın üyesidir. Bakterinin tek doğal yaşam alanı sıcakkanlı hayvanların kalın bağırsağıdır ve bazı istisnalar hariç *E. coli* genellikle bağırsak yolunun dışında pekte hayatta kalamadığı için, çevresel örneklerde, yiyeceklerde veya sularda rastlanması çoğunlukla yeni dışkı olduğunu göstermektedir. Bu örneklerdeki *E. coli* popülasyonu, dışkı kirliliğinin boyutundan, hijyen uygulamalarının eksikliğinden ve depolama koşullarından etkilenmektedir (Stephen and Joseph, 2013). Sadece *E. coli*'nin varlığı, gıda veya suda bulunması; doğrudan numunede patojenik mikroorganizmaların bulunduğunu göstermez. Ancak çoğu *Salmonella spp.* ve hepatit A virüsü patojeniktir (Brüssow *et al.*,2004). Bu nedenle *E. coli*, kabul edilemez seviyelerde fekal kontaminasyon içerebilen gıda ve su numunelerini tanımlamak için bir indikatör organizma olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Stephen and Joseph, 2013).

*E. coli*, fekal koliformlara göre dışkı kontaminasyonunun daha spesifik bir göstergesi olarak kabul edilir. Çünkü fekal koliformlara yönelik testler genellikle ısıya dayanıklı fekal olmayan koliform bakterileri de kapsamaktadır (Donna *et al.* 1993). Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı (EPA) tarafından önerilen *E. coli* testi, bu mikroorganizma için seçici olan bir enzimin eksikliğini baz alarak olası fekal koliformları doğrulamakta ve *E. coli*'yi fekal olmayan ısıya dayanıklı koliformlardan ayırmaktadır. Koliform testlerinin yaygınlaşmaya başlamasıyla kullanımı ve yorumlanmasıyla ilgili farklı görüşler ortaya çıkmıştır. Bunun sebebi olarak, koliform testi pozitif çıkmasına rağmen tespit edilen bazı mikroorganizmaların dışkı kaynaklı olmaması gösterilmiştir. Sonraki yıllarda test yönteminin daha spesifik hale gelmesi için bir çok test geliştirilmiştir. Bu testlerden en önemlilerinden birisi daha yüksek bir inkübasyon sıcaklığı kullanarak dışkı kökenli koliformları diğerlerinden ayıran dışkı koliform testidir (Stephen and Joseph, 2013).

*E. coli*'nin indikatör bir organizma olarak kullanımı, tek bir tür olmaması gerçeğiyle bir şekilde sınırlandırılmıştır. Nitekim, *Proteus* ve *Aerobacter* gibi normalde insan bağırsak yolunun dışında toprakta ve suda bulunup dışkı kirliliğini temsil etmeyen bazı mikroorganizma grupları da *E. coli*'ye atfedilen bir kısım özellikleri taşımakta ve insanlarda bulunan *E. coli*'ye benzer şekilde diğer sıcakkanlı hayvanların bağırsaklarında bulunurlar (Stephen and Joseph, 2013). Bununla birlikte, yapılan çalışmalar *E. coli*'nin fekal koliformdan çok daha iyi bir hastalık riski göstergesi olduğunu ortaya çıkarmıştır. Nitekim Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Kurumu, *E. coli*'nin tatlı su temas rekreasyonu göstermesi bakımından suları sınıflandırmada bir kriter olarak kullanılmasını tavsiye etmiştir. Dışkı koliform testi veya insan atıklarına yönelik herhangi bir indikatör organizma testinin zayıf yönlerinden birisi, insan atıklarıyla ilgisi olmayan bazı bakteriyel patojenlerin bulunmasıdır (Eckner, 1998). Bu nedenle doğal olarak oluşan mikrobiyal patojenler önemli bir halk sağlığı sorunu haline geldiği ölçüde, tamamen yeni test prosedürlerinin geliştirilmesine ihtiyaç duyulabilir.

Günümüzde patojenik *E. coli* O157:H7 suşu için PCR testleri olmasına rağmen, fekal kontaminasyonun göstergesi olarak kullanılan *E. coli* testleri genellikle kültürel esastır. Bununla birlikte kültür testlerin kullanılmasında da sorunlar vardır (Stephen and Joseph, 2013). Kültürel testlerde genel olarak numunedeki *E. coli* sayısı dikkate alınmamakta ve sebep olarak bazı sağlıklı koliformların canlı olmalarına rağmen kullanılan besiyerinde gelişmemeleri ve yine çevrede bulunan koliformların stres altında olmaları nedeniyle kültür ortamında zor gelişmeleri gösterilmektedir.

## 2. SONUÇ

Sonuç olarak, *E. coli*'nin suyun bakteriyolojik kalitesini belirlemede önemli bir gösterge olduğunu söylemek mümkündür. Çünkü *E. coli* tespiti için ekonomik, hızlı, hassas, spesifik ve gerçekleştirmesi daha kolay çok sayıda yöntem vardır. Ayrıca, *E. coli*'nin sudaki yaşam süresinin kısa olması nedeniyle son kontaminasyonları en iyi şekilde gösterdiği de bir gerçektir. Bu nedenle, suların bakteriyolojik kalitesini belirlemek için *E. coli*'nin sürekli izlenmesi önemlidir.

## 3. KAYNAKLAR

Burton G. A., Gunnison D., Lanza J. R. (1987). Survival of pathogenic bacteria in various freshwater sediments. *Appl Environ Microbiol*;53:633-8.

Gelover S., Gomez L.A., Reyes K. and Leal M. T. (2006). A practical demonstration of water disinfection using TiO<sub>2</sub> films and sunlight. *Water Res*;40:3274-80.

Dufour A., Snozzi M., Koster W., *et al.* (2003). Assessing microbial safety of drinking water, improving approaches and methods. Available from: [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/9241546301/en/](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/9241546301/en/)

Issac-Renton J., Moorhead W. and Ross A. (1996). Longitudinal studies of Giardia contamination in two adjacent community drinking water supplies: cyst levels, parasite viability and health impact. *Appl Environ Microbiol*;62:47-54.

Hunter PR. (1997). *Waterborne diseases epidemiology and ecology*. Chichester: Wiley.

Pruss A., Kay D., Fewtrell L. and Bartram J. (2002). Estimating the burden of disease due to water, sanitation and hygiene at global level. *Environ Health Perspect*;110:537-42.

Stephen T. O. and Joseph K.(2013). Ampof Escherichia coli as an indicator of bacteriological quality of water: an overview. *Microbiology Research*; volume 4:e2

Nicholas J. A., Willie O. G. and Mario S. (2001). Indicators of microbial water quality. World Health Organization (WHO). *Water Quality: Guidelines, Standards and Health*. Edited by Lorna Fewtrell and Jamie Bartram. Published by IWA Publishing, London, UK

Brüssow H, Canchaya C, Hardt WD. (2004). Phages and the evolution of bacterial pathogens: from genomic rearrangements to lysogenic conversion. *Microbiol Mol Biol Rev* 2004;68:560-602.

Donna S. F., Donna N. M., and Kevin D. M. (1993). *Escherichia coli* and fecal coliform bacteria as indicators of recreational water quality. *Water Resources Investigations Report* 93-4083.

Eckner KF. (1998). Comparison of membrane filtration and multiple-tube fermentation by the Colilert and Enterolert methods for detection of waterborne coliform bacteria, *Escherchia coli* and enterococci used in drinking and bathing water quality monitoring in Southern Sweden. *Appl Environ Microbiol* 1998;64:3079-83.

**NUTRITIONAL VALUE OF SHRIMP BOILING WATER AND POTENTIAL USAGE IN  
FOOD INDUSTRY**

**KARİDES HAŞLAMA SUYUNUN BESİNSEL ÖZELLİKLERİ VE GIDA ENDÜSTRİSİNDE  
KULLANIM OLANAKLARI**

*Elif Tuğçe AKSUN TÜMERKAN<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Asst.Prof.Dr. Department of Food Processing-Food Technology, Ankara Yıldırım Beyazıt University,  
Vocational School of Health Services, Ankara, Türkiye*

*<sup>1</sup> ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1993-0569>*

**ABSTRACT**

In addition to the favorable nutritional value of seafood, different consumption opportunities and taste options leading it one of the animal protein sources. Shrimp is in the shellfish group and is one of the most preferred shellfish products with its high protein content. Shrimps, which are usually consumed boiled, can then be consumed by processing with different spices and other heat treatment methods. The water used in the boiling process is an important by-product as it allows the passage of the nutritional and physic-chemical properties of the food subjected to the boiling process. Shrimp boiling water allows for the passage of protein and other nutritional elements due to the high protein contained in shrimp. In other foods, especially in aquatic products, especially by-products with high protein content are used for different purposes. In this study, it is aimed to investigation of the nutritional composition of shrimp boiling water, which is an important by-product at both industrial and domestic level, and to determine alternative uses in the food industry. It is important to determine the difference in the ratio of boiling water to the amount of meat used and the differences in the nutrients transferred to the boiling water. For this purpose, freshly caught shrimp boiled in 1/5 and 1/10 of water at 100 °C for 5 minutes. After boiling, the shrimps were removed from the boiling water and filtered on filter paper when the boiling water cooled to room temperature. The filtered shrimp boiling water is dried in the oven. The level of protein, lipid, dry matter and ash levels were analyzed to determine the nutrients in the dried shrimp boiling waters. At the end of the research, the differences on the nutrient composition of the shrimp/boiling water ratio were found to be statistically significant. The amount of protein was found to be 15.89% and 11.23% in the groups containing 1/5 and 1/10 shrimp, respectively. Since the lipid content in shrimp meat is quite low, the lipid content in boiling water was also found to be quite low. In the boiling water groups containing 1/5 and 1/10 shrimp, the lipid content was determined as 0.2% and 0.5%, respectively. Differences between groups in dry matter and ash content were also found to be important. The results of the research show that the dried form or liquid form of shrimp boiling water can be used as a protein supplement due to its high protein level. The use of high volumes of shrimp boiling water as a protein source is an important example of the alternative use of processing by-products.

**Keywords:** shrimp, by-product, boiling, protein, nutrient composition

**INTRODUCTION**

Seafood is an important animal protein source in human diet. With increasing demand of high-quality animal protein sources as a result of growing population and globalization, the importance of seafood has well-understood (Aksun Tümerkan. 2021a). As reported by FAO, annual seafood consumption has raised from 18.5 to 20.3 kg/person between 2011 and 2016 (FAO 2018). Shellfish products accepted as an important type of seafood which can be processed by different techniques. Shellfish divide commonly of 2 different kinds of animals: crustaceans and mollusks. Crustaceans known as crab, shrimp and lobster, characterized by invertebrates have segmented bodies that prevent the body by hard chitin contained shells. (Venugopal and Gopakumar, 2017). Of total shellfish consumption was reported around 5 kg/per person and this rate divided into 2.6 kg mollusks species and 1.8 kg for crustacean

species in 2013 divided in 2013 (FAO 2016). The market size of shellfish 51.32 billion dollar in 2021 and is estimated to exceed 70 billion USD by 2030 (Verified Market Research, 2021). Shrimp is one of the most consumed crustacean species owing to its nutritional benefits, economical value and easily processing capacity (Uawisetwathana et al., 2021). High quality protein level and respectively lower fat content are the main benefits of shrimp. Boiling is the most recommended processing method for shrimp due to being easily and economic (Costa et al., 2018). As a result of increased awareness to valorization of by-product of seafood processing sector, alternative bioactive compound (Aksun Tümerkan., 2021b). Since any external food additives or species are not used during boiling process, the boiling water has just contained shrimp derived nutritional compound (Forghani et al., 2020). This research aimed at the determination of nutritional value of shrimp boiled water and thereof alternative usage in food industry.

## **MATERIAL AND METHOD**

Deep water pink shrimps, (*Parapenaeus longirostris*, L) were obtained by a local retailer in Izmir, Turkey in November 2022. The shrimp were transported to the laboratory directly within cold chain. Fresh shrimps were then washed in distilled water until removing external contaminants. Shells, heads, legs and tails were removed by sharp blade before boiling process. Meat of abdominal muscle, as the main consumable part of shrimp were used for boiling. The total amount of shrimp was divided into two groups, one of the groups boiled in 1/5 and 1/10 of water. All boiling experiments were conducted at 100 °C for 5 minutes and performed least in triplicate (Jarupalee, et al., 2018). Following to boiling process, shrimp boiling water cooled at the room temperature and then filtered with was removed with sterile drying paper (Whatman filter paper No:4) and dried in the Memmert laboratory type-oven (Memmert, Schwabach, Germany) at 50 °C for 36 hours.

### **Proximate Composition Analyses**

The proximate composition of the boiling water was analyzed by the following techniques: crude protein content was determined as stated by the Kjeldahl method (AOAC, 2000) based on sulfuric acid (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) burning and titration approaches. Total nitrogen content used for the determination of crude protein level calculation within 6.25 conversion factor. The moisture and ash content of boiling water extracts were analyzed following the AOAC method (AOAC, 1990) 5 grams of sample was dried at 103°C ± 2 overnight in an oven Schwabach, Germany). Overnight-dried shrimp boiling extracts were then putted to desiccators for cooling without any moisture absorption, and then reweighed and the moisture level determined. The ash level of shrimp boiled extracts was determined by AOAC, (1990) method based on incineration, cooling and weighted gravimetrically. The total lipid content of boiling shrimp water extracts the sample was determined according to the method of Bligh and Dyer, (1959) based on chloroform-methanol extraction and evaporation processes.

### **Statistical analysis**

All results of proximate analyses are given as average ± standard deviation which performed in triplicate. ANOVA and Tukey post-hoc test at a P value of 0.05 were run to determine significant differences among the shrimp boiling water extracts groups by SPSS 22.0 software (Chicago, IL, USA).

## **RESULT AND DISCUSSION**

The result of proximate composition analyses was given in Table 1. The protein levels were determined as 15.89 and 11.23% in the shrimp boiling groups containing 1/5 and 1/10 shrimp/water, respectively. The results revealed that the rate of shrimp and water during boiling process impact on the protein conversion of the shrimp boiling water. The lipid level of shrimp boiled water extracts was determined as 0.5 and 0.2% in the shrimp boiling groups containing 1/5 and 1/10 shrimp/water, respectively. As expected, the lipid level of both groups found quite low as a result of the shrimp meat has respectively lower lipid rate in seafood species. The moisture content was determined as 17.01 and 13.05% in 1/5 and 1/10 shrimp/water, respectively. The ash contents of shrimp boiling water extracts were also found significantly different. (1.12 and 0.86% for 1/5 and 1/10 shrimp/water groups., respectively).

**Table.1.** The proximate composition of shrimp boiling water extracts

Groups	Protein (%)	Lipid (%)	Moisture (%)	Ash (%)
1/5 (s/w)	15.89±0.03 <sup>b</sup>	0.5±0.01 <sup>b</sup>	17.01±0.07 <sup>b</sup>	1.12±0.06 <sup>b</sup>
1/10 (s/w)	11.23±0.05 <sup>a</sup>	0.2±0.01 <sup>a</sup>	13.05±0.05 <sup>a</sup>	0.86±0.04 <sup>a</sup>

Data are expressed as mean value ± standard deviation; same letter in the same row (a-b) indicate significant differences ( $p < 0.05$ ).

The above-mentioned results showed that the protein level is very appropriate for using this animal protein source within different aim in the food industry. Further analyses such as allergen risks and cytotoxicity could be used into the characterization of shrimp boiling water for suggesting to public usage.

## REFERENCES

- Aksun Tümerkan, E. T. (2021a). Sustainable utilization of gelatin from animal-based Agri–food waste for the food industry and pharmacology. *Valorization of Agri-Food Wastes and By-Products*, 425-442.
- Aksun Tümerkan, E. T.. (2021b). Valorization of seafood industry waste for gelatin production: facts and gaps. In *Valorization of Agri-Food Wastes and By-Products* (pp. 561-578). Academic Press.
- AOAC, Official Methods of Analysis of AOAC International Association of Official Analysis Chemists International Official Methods. 1990.
- AOAC, Official methods of analysis (20th ed.). Gaithersburg, MD: AOAC International. 2000.
- Bligh, E.G. and W.J. Dyer, A rapid method of total lipid extraction and purification. *Biochem. Physiol*, 1959. 37,; p. 911-917.
- Costa, M. V. D., Silva, A. K. N. D., Rodrigues, P. R., Silva, L. H. M. D., & Rodrigues, A. M. D. C. (2018). Prediction of moisture transfer parameters for convective drying of shrimp at different pretreatments. *Food Science and Technology*, 38, 612-618.
- FAO (2016) Yearbook of fishery statistics summary tables. Fisheries and Aquaculture Department, Rome, 200 p. <http://www.fao.org/3/i9942t/I9942T.pdf>
- FAO (2018) The State of World Fisheries and Aquaculture 2018—meeting the sustainable development goals. Rome
- Forghani, B., Bordes, R., Ström, A., & Undeland, I. (2020). Recovery of a protein-rich biomass from shrimp (*Pandalus borealis*) boiling water: a colloidal study. *Food chemistry*, 302, 125299.
- Jarupalee, T., Chatchatee, P., Komolpis, K., Suratannon, N., Roytrakul, S., Yingchutrakul, Y., ... & Palaga, T. (2018). Detecting allergens from black tiger shrimp *penaeus monodon* that can bind and cross-link IgE by ELISA, western blot, and a humanized rat basophilic leukemia reporter cell line RS-ATL8. *Allergy, Asthma & Immunology Research*, 10(1), 62-76.
- Uawisetwathana, U., Situmorang, M. L., Arayamethakorn, S., Suantika, G., Panya, A., Karoonuthaisiri, N., & Rungrassamee, W. (2021). Supplementation of ex-situ biofloc to improve growth performance and enhance nutritional values of the Pacific white shrimp rearing at low salinity conditions. *Applied Sciences*, 11(10), 4598.
- Venugopal V, Gopakumar K (2017) Shellfish: nutritive value, health benefits, and consumer safety. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 16:1219–1242

USAGE OF PROTEIN BASED NANOFIBER IN FOOD INDUSTRY  
PROTEİN BAZLI NANOLİFLERİN GIDA ENDÜSTRİSİNDE KULLANIMI

*Elif Tuğçe AKSUN TÛMERKAN<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Asst.Prof.Dr. Department of Food Processing-Food Technology, Ankara Yıldırım Beyazıt University, Vocational School of Health Services, Ankara, Türkiye*

<sup>1</sup> *ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1993-0569>*

**ABSTRACT**

The food industry offers different, economical, and practical solutions every day with biotechnological innovative applications. Nanotechnological applications have gained momentum especially in the last 20 years and have started to be applied in alternative varieties depending on the development of technology. In addition to the moisture, lipid and protein content of the food to which it is applied, the volatile components contained in the food, the risk of bitterness and the packaging material change the type and content of the nano-sized application applied. In addition to synthetic polymers, natural protein sources are also used in the production of nanofibers. While protein sources such as gelatin and collagen are used as carrier agents in nanofibers, they are also seen as an important source due to their increased nutrient content. In this review study, the possibilities of using gelatin and collagen varieties obtained from different sources in nanofiber production were compared. The nutritional composition, physico-chemical properties and electrochemical characterization of gelatin and collagen directly affect the quality and usage possibilities of the nanofiber to be produced. Since these properties vary depending on the source from which gelatin and collagen are obtained, the extraction method, and the conditions of storage; gelatin and collagen, which differ according to animal and vegetable species, diversify nanofibers. Although terrestrial gelatin and collagen sources have traditionally been used, aquatic gelatin and collagen have attracted attention due to the advantages they provide in recent years. Although the use of vegetable protein sources in the production of gelatin and collagen offers various advantages, it is more limited in terms of sustainability than animal sources. Properties such as fluidity and adhesion to the surface affect the particle size of the nanofibers and the success of the use of active substances. The moisture content, lipid amount and surface area in the foods to which nanofibers are applied affect the causative mechanism of nanofiber applications. In this review, the rules, and risky situations to be considered during the application of other proteins obtained from different sources in different food groups such as meat products, fruit or vegetables and dairy products were investigated. Nanofibers, which are used to improve both antioxidant, anti-denaturation, and odor-taste properties, offer alternative solutions depending on their protein content. It is foreseen that the data obtained in this review will benefit the food industry in many sub-areas from packaging industry to product development. In today's world where the importance of nanotechnological food applications is increasing, the advantages offered by alternative protein sources in nanofiber production and alternative usage opportunities are very important.

**Keywords:** Nanofiber, protein, oxidation, quality, food industry

**INTRODUCTION**

Within increasing population, the demand of food products and thereof the size of food market has expanded globally over the last years. As a result of technological advances, different approaches applied for reaching better nutritional value and serving alternatives to consumers (Balasubramanian and Cole,2002; Michel et al.,2021). Nanotechnology approaches by advanced techniques in the food industry have accepted a novel trend for both academia and industry (He et al.,2019; Enescu et al.,2019). Nanofiber approach is one of the most useful nanotechnology methods in the food industry with some practical aims. These aims most commonly focus on extending shelf life or improve the functional properties of food products (Fuenmayor et al.,2018; Tang et al.,2019). Nanofibers produce by several



methods such as electrospinning, phase separation, freeze-drying and Nanofiber approaches by electrospinning techniques offer several advantages such as being cheaper, easy and feasible (Etxabide et al., 2018; Salević-Jelić et al.,2023). Nanofiber can contain biological materials such as antioxidant, protein or antimicrobial agents. Both animal and plant-based protein sources are accepted tailoring materials in the nanofiber applications. In addition to improving functional properties of nanofiber - based material; protein sources also used as a carrier agent and improve nutritional quality (Rama and Vijayalakshmi, 2022).This review deeply investigated the protein sources used in nanofiber application in the food industry.

### **Protein Sources in Nanofiber**

Protein sources divided into the origins such as plant sources and animal sources. Depending on protein derived sources, the nanofiber properties differ. Plant derived proteins such as zein, gluten and soy protein are main protein alternatives for food industry (Yıldız et al.,2020).These sources can used alone or mixed with alternative bioactive reagents (Jiang et al.,2010;Ahn et al.,2018).Due to gluten-originated health problem and some challenges in consumption of soy-protein, zein is the most preferable plant based protein source that can used in the nanofiber aimed for food consumption. Types of animal-based protein used in nanofiber have relatively higher in number. Gelatin, casein, silk protein, collagen, creatine known as the main animal-based protein used in nanofiber approaches (Jao et al.,2017; Yıldız et al.,2020). Since these protein sources can derived a wide range of animals, the chance of the accessibility of animal protein is relatively higher. But allergenicity and animal-based contamination are the main the health concerns about animal originated protein nanofiber. Novel research focus on the animal-based protein usage in the nanofiber with providing the health concern demand. Animal based protein offers better mechanical and structural properties (Wang et al.,2022). Electromagnetic properties, dissolving mechanisms in any type of solvent and adhesion capacity of animal based proteins impact on the nanofiber characterization. Depending on food types, the characteristic of nanofiber and thereof protein sources also differ due to acidity, electromagnetic capacity, moisture level and physicochemical properties.

### **CONCLUSION**

Different protein sources used in nanofiber were investigated in this review. Within better understanding of protein sources and ecofriendly approaches in food industry. Different nanofiber applications have gained importance over the last year. Further research could be focused on the sustainable production of these sources within maximum concern for public health and industrial benefits.

### **REFERENCES**

- Ahn, S., Chantre, C. O., Gannon, A. R., Lind, J. U., Campbell, P. H., Grevesse, T., ... & Parker, K. K. (2018). Soy protein/cellulose nanofiber scaffolds mimicking skin extracellular matrix for enhanced wound healing. *Advanced healthcare materials*, 7(9), 1701175.
- Balasubramanian, S. K., & Cole, C. (2002). Consumers' search and use of nutrition information: The challenge and promise of the nutrition labeling and education act. *Journal of marketing*, 66(3), 112-127.
- Enescu, D., Cerqueira, M. A., Fucinos, P., & Pastrana, L. M. (2019). Recent advances and challenges on applications of nanotechnology in food packaging. A literature review. *Food and Chemical Toxicology*, 134, 110814.
- Fuenmayor, C. A., & Espitia, P. J. (2018). Electrospun Nanofibers: Development and Potential in Food Packaging Applications. In *Nanotechnology Applications in the Food Industry* (pp. 141-180). CRC Press.
- He, X., Deng, H., & Hwang, H. M. (2019). The current application of nanotechnology in food and agriculture. *Journal of food and drug analysis*, 27(1), 1-21.
- Jao, D., Xue, Y., Medina, J., & Hu, X. (2017). Protein-based drug-delivery materials. *Materials*, 10(5), 517.
- Jiang, Q., Reddy, N., & Yang, Y. (2010). Cytocompatible cross-linking of electrospun zein fibers for the development of water-stable tissue engineering scaffolds. *Acta biomaterialia*, 6(10), 4042-4051.

- Michel, F., Hartmann, C., & Siegrist, M. (2021). Consumers' associations, perceptions and acceptance of meat and plant-based meat alternatives. *Food Quality and Preference*, 87, 104063.
- Rama, M., & Vijayalakshmi, U. (2022). Biological and mechanical investigation of novel flax/silk protein-based nanofibrous scaffold for bone regeneration. *Progress in Natural Science: Materials International*, 32(4), 443-455.
- Salević-Jelić, A., Lević, S., Stojanović, D., Jeremić, S., Miletić, D., Pantić, M., ... & Nedović, V. (2023). Biodegradable and active zein-gelatin-based electrospun mats and solvent-cast films incorporating sage extract: Formulation and comparative characterization. *Food Packaging and Shelf Life*, 35, 101027.
- Tang, Y., Zhou, Y., Lan, X., Huang, D., Luo, T., Ji, J., ... & Wang, W. (2019). Electrospun gelatin nanofibers encapsulated with peppermint and chamomile essential oils as potential edible packaging. *Journal of agricultural and food chemistry*, 67(8), 2227-2234.
- Yıldız, A., Kara, A. A., & Acartürk, F. (2020). Peptide-protein based nanofibers in pharmaceutical and biomedical applications. *International journal of biological macromolecules*, 148, 1084-1097.
- Wang, Y., Khan, M. A., Chen, K., Zhang, L., & Chen, X. (2022). Electrospinning of natural biopolymers for innovative food applications: a review. *Food and Bioprocess Technology*, 1-22.

**RUMİNANLARDA MEME BEZİNİN SAVUNMA MEKANİZMASI VE MASTİTİS  
RİSKİNİN AZALTIKMASI**  
**DEFENSE MECHANISM OF THE BREAST GLAND AND REDUCING THE RISK OF  
MASTITIS IN RUMINANTS**

*Selinay ALKAYA<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Veteriner Hekim, Balıkesir Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veterinerlik Doğum ve  
Jinekolojisi Tezli Yüksek Lisans Programı, Balıkesir, Türkiye*

*<sup>1</sup>ORCID ID: 0000-0003-0640-1254*

*Nevzat SAAT<sup>2</sup>*

*<sup>2</sup>Doç. Dr., Balıkesir Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Balıkesir,  
Türkiye*

*<sup>2</sup>ORCID ID: 0000-0002-8135-6142*

**ÖZET**

Bu bildiri de meme bezinin savunma sistemi hakkında bilgi vermek, meme bezi savunma sisteminin tehlikeye girdiği durumlar hakkında bilinç oluşturmak ve mastitis riskinin azaltılması için tavsiyelerde bulunmak amaçlandı.

Meme bezi, anatomik ve fizyolojik yapısı nedeniyle patojenlerle çok sık karşılaşan organdır. Ancak bulaşan her patojen mastitise neden olmaz. Patojenlerin mastitis oluşturma riski meme bezi savunma sisteminin etkinliğine bağlıdır. Meme dokusunun savunma sisteminde anatomik, kimyasal, hücrel ve humoral faktörler görev alır. Bu faktörler doğuştan gelen ve kazanılmış bağışıklık sistemi olarak sınıflandırılabilir. Doğuştan gelen bağışıklık sistemi nonspesifiktir ve bakteri tehdidine dakikalar içinde cevap verebilir. Kazanılmış bağışıklık sisteminin tamamen aktive olması birkaç gün sürebilir ancak verdiği cevaplar daha spesifiktir. Anatomik savunma sisteminde meme başı, meme başı sfinkteri, meme başı kanalı ve fiziksel bariyer görevi gören laktosebum adı verilen keratin tabaka görevlidir. Kimyasal savunma sisteminde ise lizozim ve laktoferrinin işlevleri etkilidir.

Doğuştan gelen savunma sisteminde anatomik ve kimyasal savunmaya ek olarak görevli immunolojik savunma hücreleri de vardır. Bu hücreler makrofajlar, nötrofiller, doğal öldürücü hücreler, oksilipitler ve yapılarına, işlevlerine, kökenlerine göre ayrılabilen farklı sitokin gruplarıdır. Kazanılmış bağışıklık sistemi hücrel ve humoral olarak iki bölümde incelenir. Kazanılmış bağışıklık immünolojik savunma hücreleri arasında T lenfositler, B lenfositler, makrofajlar ve plazma hücreleri bulunur. Humoral savunma sisteminde ise immünoglobülinler görevlidir. Meme sekresyonunda bulunan immünoglobülinler ya kan serumundan ya da B lenfosit-plazma grubu hücreler tarafından üretilir.

Meme bezi savunmasının tehlikeye girdiği meme başı keratin tabakasının oluşmadığı ya da geç olduğu durumlarda alınması gereken genel sağım hijyeni kuralları mevcuttur. Aynı zamanda stres anında salgılanan glikokortikoid, kandan enfeksiyon bölgesine lenfosit geçişini azalttığı için meme bezi savunma sistemi açısından risk oluşturmaktadır. Savunma sistemini desteklemek için mikrobeyinler önemlidir. Önerilen dozlarda vitamin, mineral ve antioksidan takviyesi mastitis görülme sıklığını azaltmanın bir yoludur. Düzenli aşılamayla immünoglobülin miktarını arttırmak da mastitis görülme sıklığını azaltmanın bir diğer yoludur.

Sonuç olarak yapılan vitamin, mineral ve antioksidan takviyeleri ve hijyen kurallarına uygun sağım işlemine ek olarak hayvanlarda mastitis aşısının kullanılması mastitis görülme sıklığı ve şiddetini azalttığı yönündedir.

**Anahtar Kelimeler;** Doğal bağışıklık, kazanılmış bağışıklık, mastitis, meme bezi savunma sistemi

## ABSTRACT

In this paper, it is aimed to provide information about the defense system of the mammary gland, to raise awareness about the situations in which the mammary gland defense system is compromised, and to make recommendations to reduce the risk of mastitis.

The mammary gland is the organ that frequently encounters pathogens due to its anatomical and physiological structure. However, not all transmitted pathogens cause mastitis. The risk of pathogens causing mastitis depends on the effectiveness of the mammary gland defense system. Anatomical, chemical, cellular and humoral factors are involved in the defense system of the udder tissue. These factors can be classified as innate and acquired immune system. The innate immune system is nonspecific and can respond to bacterial challenge within minutes. It may take several days for the adaptive immune system to be fully activated, but its responses are more specific. The teat, teat sphincter, furstenberg rozeti and keratin layer called lactosebum, which acts as a physical barrier, are responsible for the anatomical defense system. In the chemical defense system, lysozyme and lactoferrin affect the functions.

In the innate defense system, in addition to the anatomical and chemical defense, there are also immunological defense cells. These cells are macrophages, neutrophils, natural killer cells, oxylipids and different cytokine groups that can be differentiated according to their structure, function and origin. The acquired immune system is examined in two parts as cellular and humoral. Acquired immune immunological defense cells include T lymphocytes, B lymphocytes, macrophages, and plasma cells. Immunoglobulins are responsible for the humoral defense system. Immunoglobulins in mammary gland secretion are produced either from blood serum or by B lymphocyte-plasma group cells.

There are general milking hygiene rules that should be taken in cases where the mammary gland defense is compromised and the teat keratin layer is not formed or is formed late. In addition, glucocorticoid secreted under stress a risk for the mammary gland defense system, as it reduces the passage of lymphocytes from the blood to the infection site. Micronutrients are important to support the defense system. Vitamin, mineral and antioxidant supplementation at recommended doses is a way to reduce the incidence of mastitis. Increasing the amount of immunoglobulin with regular vaccination is another way to reduce the incidence of mastitis.

As a result, the use of mastitis vaccine in animals in addition to vitamin, mineral and antioxidant supplements and milking in accordance with hygiene rules is that the incidence and severity of mastitis are reduced.

**Keywords:** Adaptive immunity, innate immunity, mastitis, mammary gland defense system

## 1.GİRİŞ

Yeni meme içi enfeksiyonların oluşmasını engellemek meme bezinin bağışıklık sisteminin etkinliğine bağlıdır. Bağışıklık sisteminin amacı, sadece meme bezinin bakteri istilasını önlemek değil, aynı zamanda mevcut enfeksiyonları ortadan kaldırmak ve normal doku fonksiyonunu geri kazandırmaktır. Meme bezi bağışıklığının bileşenleri, mastitise neden olan çeşitli patojenlere karşı savunmak için birlikte çalışan karmaşık bir doku, hücre ve molekül sisteminden oluşur. Meme bezi çeşitli savunma sistemleriyle korunur. Bunlar doğuştan gelen bağışıklık ve spesifik bağışıklık sistemleridir. Doğuştan gelen bağışıklık nonspesifiktir ve bakteri tehdidine dakikalar içinde cevap verebilir. Buna karşılık, kazanılmış bağışıklık sisteminin tamamen aktif hale gelmesi birkaç gün sürebilir ve mastitise neden olan seçili bakteriyel faktörlere daha spesifik bir yanıt verebilir. Meme bezi immünolojisinin son derece karmaşık doğasını doğuştan gelen ve kazanılmış yanıtlar açısından tartışmak uygun olsa da bu alt sistemlerin birbirinden bağımsız olarak çalışmadığı vurgulanmalıdır. Mastitise karşı tam koruma sağlamak için meme bezinin hem doğuştan gelen hem de kazanılmış bağışıklık faktörlerinin etkileşimli ve koordineli çalışması gereklidir<sup>1</sup>.

## 2.DOĞAL BAĞIŞIKLIK

Doğuştan gelen bağışıklık, mastitise neden olan patojenlere ilk kez karşılaştığında oluşan ilk savunma hattıdır. Doğuştan gelen bağışıklık tepkisi, bakteriyel maruziyetten sonra saniyeler içinde meydana

gelebilen hızlı bir aktivasyon ile karakterizedir. Doğuştan gelen savunma mekanizmalarının etkinliğine bağlı olarak, mastitise neden olan patojenler, süt veya meme dokusunda herhangi bir değişiklik meydana gelmeden nötralize edilebilir. Doğuştan gelen bağışıklık acil bir savunma hattı olmasına rağmen bakterileri tanıma ve tepki verme de çok spesifik değildir ve bağışıklık tepkisi uzun sürmez. Ayrıca, doğuştan gelen bağışıklık mekanizmaları, mastitise neden olan aynı patojene tekrar tekrar maruz kalmakla artmaz. Doğuştan gelen bağışıklığın direnç mekanizmaları ya etkilenen meme dokularında lokalize olabilir ya da aktivasyondan sonra kan akışından enfeksiyon bölgesine hızla alınabilir. Doğuştan gelen bağışıklığın ana bileşenleri, meme bezinin korunmasını kolaylaştıran çeşitli hücre ve moleküler mekanizmalara ek olarak memenin anatomik ve kimyasal savunma sitemlerini de içerir<sup>2</sup>.

### 2.1. Anatomik (Mekanik) Savunma

Meme ucunun anatomik yapısı, mekanik savunma sisteminin bir parçası olarak mastitis bakterilerinin memeye girmesine izin vermez. Meme uçları yere yakın olan aşırı büyük bir meme veya çok dar veya çok büyük bir kanala sahip meme uçları, ineği mastitise yatkın hale getirebilir. Süt inekleri arasında mastitis insidansının meme başı ile yakından ilişkili olduğu bildirilmektedir<sup>3</sup>. Meme başı anatomik savunma sistemi meme başı sfinkteri, meme başı keratini ve fürstenberg rozeti gibi anatomik yapılardan oluşur. Meme başında, sağım aralarında meme başı kanalını sıkıca kapatmak ve bakteri penetrasyonunu engellemek için kaslardan oluşan meme başı kanalını çevreleyen sfinkter bulunur. Meme başı kanalı antimikrobiyal özelliği olan skuamöz epitel hücrelerinde üretilen balmumu benzeri madde olan ve serbest yağ asidi ihtiva eden lactosebum adı verilen keratin tabakası ile kaplıdır. Bu keratin tabakası meme bezine göçü engelleyen fiziksel bariyer görevi görür<sup>4</sup>. Yapılan çalışmalar, keratin birikiminin emzirme olmayan dönemde meme başı kanalının bu madde ile tıkandığını ve fiziksel bir bariyer olduğunu buldu<sup>5</sup>. Gram-pozitif bakteriler, keratindeki yağ asitlerinin bakteriyostatik ve bakterisidal etkilerine gram-negatif bakterilerden daha duyarlıdır. Yeni kanıtlar, keratinin ayrıca antimikrobiyal aktiviteye sahip olabilen bazı kalsiyum bağlayıcı proteinler içerdiğini göstermektedir<sup>6</sup>.

Fürstenberg rozeti güçlü mukoza kıvrımlarından oluşur ve meme başı sinusu ile meme başı kanalının birleştiği bölgede yer alır<sup>2</sup>. Meme için önemli bir savunma hattıdır.

Erken kuru dönemde ve doğumdan hemen önce, süt tutulmasıyla ilişkili meme içi basıncın artması nedeniyle meme başı kanalındaki düz kaslar daha rahat hale gelir. Laktasyonun aniden kesilmesinden sonra iki haftaya kadar keratin tabaka tam oluşmaz, bu durum mastitis oranının artmasıyla doğrudan ilişkilidir<sup>7</sup>. Ayrıca meme kanalı sağımdan sonra kaslar tamamen kasılmadan önce yaklaşık bir saat dilate kalır. Bu nedenle, uygulanacak olan meme başı antiseptisi, meme bezi savunmasının ilk hattı için önem teşkil eder<sup>8</sup>.

### 2.2. Kimyasal Savunma

Lizozim, ince sür kanallarının epitelleri tarafından salgılanır. Sütte bakterisidal etkisi olan bir proteindir. Lizozim, laktoferrinin bakteri duvarına bağlanmasını kuvvetlendirir. Bu iki enzimden dolayı bakteriler ince süt kanallarına yerleşemediklerinden daha çok meme boşlukları ve geniş süt kanallarında üreme eğilimindedir. Sağım normal aralıklarla devam ettiği taktirde, bu maddelerin etkinliği devam eder. Ancak, memeler normal sağım aralıkları ile boşaltılmayıp süt memelerde bırakıldığında lizozim ve laktoferrinin aktivitelerini kaybetmesine neden olur<sup>9</sup>.

Laktotransferrin ya da laktoferrin demire bağlanma ve demiri taşıma yeteneği olan bir glikoproteindir. Meme bezinde laktoferrin salınımı prolaktin kontrolü altındadır<sup>10</sup>. Laktoferrinin bakteriyostatik özelliği bakterilerin solunum enzimleri için gerekli olan demiri kendine bağlayarak bakterilerin üreme ve beslenmelerini durdurmasıyla ortaya çıkar<sup>11,12</sup>. Laktoferrin bakterilerin fagositozla öldürülmesini sağlar<sup>9</sup>. Laktoferrinin; lenfosit poliferasyonunu sağlamak, lökositlerin sitotoksik aktivitelerini düzenlemek ve antimikrobiyal etki gibi çeşitli görevleri vardır<sup>9</sup>. Aktif involusyon döneminde meme salgısı içindeki en büyük bileşen laktoferrindir<sup>8</sup>.

### 2.3. Doğal Bağışıklık İmmünolojik Savunma Hücreleri

#### 2.3.1. Makrofajlar

Sağlıklı bir meme dokusunda ve salgısında en fazla bulunan hücre tipidir<sup>13</sup>. Makrofajlar; bakterileri, hücre döküntüleri ve birikmiş süt bileşenlerini fagosite etme yeteneğine sahiptirler<sup>5</sup>. Makrofajlar

bakteriyi tanıdıkları zaman nötrofillerin bakterisidal aktivitesini uyararak Tumor Nekrozis Faktör-alfa (TNF- $\alpha$ ) ve İnterlökin-1 beta (IL-1 $\beta$ ) gibi proinflatuar sitokinleri ve lokal yangısal cevabı arttıracak olan lökotrien ve prostaglandin (PG) üretirler<sup>14</sup>.

### 2.3.2. Nötrofiller

Nötrofiller çok parçalı çekirdeğe sahip, lizozomal granüler yapıdaki beyaz kan hücreleridir. Enfekte meme bezinde enfeksiyonun erken dönemlerinde kandan çok büyük oranda nötrofil geçişi olur<sup>15</sup>. Nötrofil akışı, endotelial hücrelerde adezyon moleküllerinin ekspresyonunda eş zamanlı bir artışla birlikte kan hızında azalmaya neden olmak için doğrudan vaskülatüre etki eden sitokinler ve oksilipitler tarafından başlatılır<sup>16</sup>.

Nötrofil göçü hızlı bir şekilde gerçekleşir öyle ki yaralanmadan 30-60 dakika sonra etkilenen dokularda nötrofil birikebilir<sup>17</sup>. Nötrofil göçünün hızı ve büyüklüğü, yeni meme içi enfeksiyonların oluşumu için ana belirleyici faktör kabul edilir<sup>18</sup>. Kemotaksis, nötrofillerin kandan meme dokusuna oradan da süte geçişidir<sup>19</sup>.

Meme bezi enfeksiyonunun ilk döneminde hücrelerin %95'ini nötrofiller oluşturur, hücrel infiltrasyon gerçekleşir, kısa süre içerisinde nötrofil sayısı azalır. Kronik mastitiste ise hücre popülasyonunun %70-80'ini nötrofiller oluşturur<sup>15,20</sup>. Kandaki nötrofillerin fagositoz yapma yetenekleri sütteki nötrofillerin fagositoz yapma yeteneklerinden daha fazla olduğu görülmüştür. Meme bezi nötrofilleri yağ, kazein ve diğer süt bileşenlerini alabilirler bu da onları bakterileri fagositozlaştırmada daha az etkili hale getirir. Bu hücrelerin fagositik ve bakterisidal aktiviteleri özellikle doğum öncesi dönemde azalır ve laktasyonun bu aşamasında mastitise karşı artan duyarlılığın altında yatan nedenin bu olduğuna inanılır. Nötrofillerin fagositik ve bakterisidal yetenekleri, spesifik patojenler için opsonik antikor varlığında arttırılabilir<sup>15,21</sup>.

Serotonin, PG, histamin ve bradikinin gibi yangısal mediyatörler damar permeabilitesini arttırırken PMN infiltrasyonuna etki etmezler<sup>22</sup>. Meme epitelyal hücreleri; Toll-like reseptör (TLRs) hücreleri ile donatılmıştır. Bu hücrelerin görevi hücre dışındaki patojenlerin varlığını tespit etmek ve sitoplazmaya sinyal göndermek olarak bilinir<sup>23</sup>. Toll-like reseptör aktivasyonu epitelyal hücrelerde yangısal cevabı başlatacak olan NF-kB'yi (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) direk olarak etkiler<sup>23</sup>.

Nükleer faktör-kB, mikroorganizma ile uyarılan epitelyal hücreler, makrofajlar ve nötrofiller başta olmak üzere enfeksiyon bölgesinde bulunan tüm hücrelerin aktivasyonunu sağlar<sup>20</sup>. Sağlıklı hayvanlardan alınan süt örneklerinde NF-kB belirlenemezken, akut mastitisten etkilenen hayvanların sütlerinde NF-kB düzeyi yüksek oranda, kronik mastitiste ise orta düzeyde bulunmuştur.

Nötrofil hücre dışı tuzağı (NET) oluşumu, doğuştan gelen bağışıklık sistemine ek bir antimikrobiyal savunma mekanizmasıdır. Çalışmalar, NET'lerin, bakterileri bağlayan ve öldüren yüksek oranda konsantre antibakteriyel madde odakları sağladığını göstermektedir, fagositozdan bağımsız gerçekleşir<sup>24,25</sup>. NET oluşumu, o ortamda baskılanabilecek diğer nötrofil fonksiyonlarından farklı olarak süt varlığında fonksiyon gösterebilmeleri nedeniyle meme bezi için özel bir öneme sahiptir<sup>24</sup>.

Çeşitli çalışmalarda stres sırasında açığa çıkan endojen faktörlerin (örneğin; glikokortikoidler) kandan enfeksiyon bölgesine veya diğer immun kompartmanlara lökosit akışını azalttığı görülmüştür. Bu durum bize doğum zamanı ve erken laktasyon döneminde neden daha çok mastitis görüldüğünü açıklamaktadır. Başka bir çalışmada ise bazı bakterilerin oluşturduğu mastitisin, hayvanlarında oluşturduğu stres incelenmiştir<sup>26</sup>.

### 2.3.3. NK hücreleri (Natural Killer Hücreler -Doğal Öldürücü Hücreler)

Doğal öldürücü (NK) hücreler, meme bezinin doğuştan gelen bağışıklığının bir parçası olarak da önemli bir rol oynayan lenfositlerin bir alt popülasyonudur. Majör histokompatibilite kompleksinden (MHC) bağımsız sitotoksik aktiviteye sahip büyük granüler lenfositlerdir. Bu hücreler bağışık olmayan hayvanlarda da bulunduğundan dolayı doğal öldürücü hücreler (NK) adını almıştır. NK hücreleri, antikorlara ve komplement aktivitesine ihtiyaç duymadan tümör hücrelerini ve virüsle enfekte hücreleri sitotoksik etkileriyle parçalayarak öldürürler. Yapılan bazı çalışmalarda NK hücrelerinin tümör hücreleriyle, bakteriyel toksinlerle ve bazı virüslerle temas ettiklerinde perforin, interferon, TNF- $\alpha$  ve

bazı lenfokinleri sentezledikleri, aktivitelerinde artış olduğu tespit edilmiştir<sup>4</sup>. Nötrofil ve makrofajların ekstrasellüler patojenleri bulup yok etme yetenekleri var iken, NK hücrelerinin hücre içi patojenleri yok etme yetenekleri vardır<sup>15</sup>.

#### 2.3.4. Sitokinler

Sitokinler, hem immün hem de immün olmayan hücreler tarafından salgılanır. Sitokinler, hedef hücre zarlarındaki reseptörlere bağlanarak endokrin, otokrin veya parakrin etki gösterebilir. TNF-a ve IL-1b, enfeksiyonun ilk aşamalarında hızla eksprese edilir ve güçlü proinflatuar fonksiyonlara sahiptir; IL4, IL-10 ve IL-17 ise inflammatuar kaskatın çözülmesini aktif olarak destekler<sup>27</sup>. Sitokinlerin çoğu çok kısa yarı ömre sahiptir, bu nedenle sentezleri ve işlevleri genellikle aktivite patlamalarında meydana gelir. Sitokinler, bağışıklık tepkisinde yer alan hücrelerin aktivasyonunu, çoğalmasını ve farklılaşmasını düzenleyerek (arttırarak veya inhibe ederek) konakçının enfeksiyona verdiği yanıtın yoğunluğunu ve süresini düzenler. İnflamatuar yanıtla ilgili olarak, lökositlerin kan akışından ve meme dokularında bakteriyel istila bölgesine ekstrasvazyonu kolaylaştırmak için de gereklidir<sup>28</sup>.

Hastalıklı ve sağlıklı meme bezinde sitokin alt gruplarındaki değişikliklere bakarak terapötik ajanların etkinliğinin izlenmesi ve enfeksiyonun erken dönemde belirlenmesi sağlanır ve böylelikle sağlıklı ve hastalıklı meme ayırt edilir<sup>29</sup>.

Sitokinler lökositlerin kemotaktik aktivitesini uyararak ve lökositler üzerindeki adezyon moleküllerini aktive ederek bunların yangısal bölgeye göçünü sağlarlar<sup>30</sup>. Yapılan çalışmalarda çeşitli hücre tiplerinde apoptozisi uyaran IL-1, TNF- $\alpha$  gibi sitokinler, ineklerin meme bezi endotelial hücrelerinde bulunmuş ve bu sitokinlerin düzeylerinin *Escherichia coli* mastitisinde yükseldiği belirlenmiştir<sup>31</sup>.

#### 2.3.5. Oksilipitler

Oksilipitler, oksilipinler veya eikosanoidler olarak bilinirler. Bu güçlü lipid mediyatörleri, inflammatuar tepkinin her yönünü düzenleme yeteneğine sahiptir ve çoklu doymamış yağ asitlerinden türetilir<sup>32</sup>. Oksilipitlerin meme bezi inflammatuar yanıtlarındaki rolünü araştıran ilk çalışmaların çoğu, yalnızca PG'ler, tromboksanlar (TX) ve lökotrienler (LT) gibi COX yolundan türetilen araşidonik asit türevi eikosanoidlere odaklandı<sup>33</sup>. Bugüne kadar tanımlanmış ve çoğu biyolojik aktiviteleri ile karakterize edilmiş 130'dan fazla oksilipit vardır<sup>34</sup>.

Sitokin ve oksilipid biyosentezinin bir sonucu olarak vasküler endoteliumun toplu tepkileri ve kan lökositlerinin etkilenen dokulara sızması, ısı, şişme, kızarıklık, ağrı ve fonksiyon kaybı gibi bazı klasik inflamasyon belirtileriyle sonuçlanabilir.

#### 2.3.6. Tümör Nekrozis Faktör-alfa

Tümör nekrozis faktör- $\alpha$ , mononükleer hücrelerin yanı sıra antijenle uyarılan T hücresi, NK ve mast hücreleri tarafından da salgılanır<sup>35</sup>. Yapılan bir çalışmada, meme içine TNF- $\alpha$  verildiğinde, meme başı sisternasında ve meme bezinde başta lökosit olmak üzere somatik hücre sayısının arttığı görülmüştür<sup>35</sup>. Aynı zamanda TNF- $\alpha$ , hidrojen peroksit üretimi, süperoksit üretimi, lizozim salınımı ve degranülasyonunu sağlayarak PMN'leri aktifleştirir<sup>36</sup>. Yapılan çalışmalarda, TNF- $\alpha$ 'nın perakut koliform mastitisinde endotoksik şokun en büyük mediyatörü olduğu tespit edilmiştir<sup>35</sup>. Akut gelişen *Escherichia coli* mastitisinden ölen ineklerin kan ve sütünde TNF- $\alpha$  bulunmuştur<sup>22</sup>.

#### 2.3.7. İnterlökinler

İnterlökinlerin, lökositler arasında haberleşme molekülleri olarak görev yapan humoral faktörlerdir. *Escherichia coli* enfeksiyonunda nötrofillerin kemotaksis yapmasının sağlarken, *Staphylococcus aureus* tarafından oluşturulan enfeksiyonun sadece erken döneminde rolü vardır<sup>35</sup>. İneklerde İL-2 yoğun olarak belirlenen sitokindir<sup>22</sup>.

T hücresi geliştirici hormon olarak bilinen IL-2 yardımcı T lenfositler tarafından salgılanır ve T lenfosit immün cevabın başlamasından sorumludur. Bu sitokinler B lenfositlerin gelişimi, farklılaşması, timositlerin üremesini güçlendirilmesi, NK hücreleri ve sitotoksik T hücrelerinin aktivasyonundan sorumludur<sup>35</sup>. Gebeliğin son döneminde elde edilen kolostrum örneklerinde immün fonksiyonun azalmasıyla bağlantılı olarak İL-2 aktivitesinin düşük olduğu ve bu dönemde mastitise yatkınlığın arttığı görülmüştür<sup>22</sup>. Tümör nekrozis faktör-alfa ve İL-2 seviyesi doğuma yakın dönemde artarken, İFN-y

nadiren görülür. Bu dönemde İL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , İL 6, İL-8, IL-10 ve IL-12 sitokinleri görülmez<sup>29</sup>. *S.aureus* ile enfekte ineklerde süt IL-6 düzeylerinin subklinik saptanmasında tanı aracı olabileceği düşünülmektedir<sup>26</sup>. Enfeksiyon bölgesinde T lenfosit, makrofaj, nötrofil, monosit ve endotelial hücrelerin çoğalmasını sağlarlar<sup>19,23</sup>. *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* enfeksiyonlarında İL-8 konsantrasyonları farklıdır. *Escherichia coli* enfeksiyonunda nötrofillerin sitokin üretme kapasitesi artmaktadır<sup>29</sup>. İnterlökin-12 doğuştan ve sonradan kazanılan immün cevapta rol oynayan mediyatördür<sup>35</sup>.

### 2.3.8. Colony Stimulating Factor (CFS)

Hematopoetik kök hücrelerin farklılaşması ve üremesi için gereken sitokin grubudur. Colony Stimulating Faktör; fibroblast, endotelial hücreler, makrofajlar ve T hücreleri tarafından salgılanır.

### 2.3.9. İnterferonlar (IFN)

İki birbirine yakın protein grubundan oluşmaktadır; birinci grup: İnterferon-gamma, interferon-beta ve interferon-omega olmak üzere 3 alt gruptan oluşur. İkinci grupta ise sadece İFN-alfa bulunur<sup>9</sup>. IFN- $\alpha$  ve İFN- $\beta$  bakteriyel ve viral enfeksiyonlar da tümör hücreleri tarafından üretilirler. İnterferon-omega ineklerde erken embriyonik dönemde trofoblastlar tarafından üretilir ve İnterferon tau olarak bilinir<sup>37</sup>.

İnterferon-gamma, antijenik ve mitojenik uyarılara cevap olarak T lenfositlerden üretilen bir sitokindir<sup>14</sup>. NK hücre aktivitesini ve sitotoksik T hücrelerinin aktivitesini artırır. İnterferon-gamma fagositik hücreler üzerine etki ederek memeyi bakteriyel enfeksiyonlara karşı korur<sup>37</sup>.

### 2.3.10. Komplement Sistem

Komplement proteinler makrofajlar ve monositlerden oluşan süt ve kan serumunda bulunan bakterilerin lizisine sebep olan proteinlerdir. Komplementler ya hücre membranını parçalayarak ya da bakteri hücre membranını kaplayarak, fagositik ve diğer immün sistem hücrelerinin etkisini artırırlar.

Gram negatif bakterilerin komplement lizisine duyarlı oldukları, gram pozitif bakterilerin ise dirençli oldukları tespit edilmiştir<sup>14</sup>. Komplement konsantrasyonu kolostrumda, mastitisli memelerde ve memenin involusyon sürecinde yüksektir. Ama laktasyonda ve sağlıklı bir memede ise oldukça düşüktür<sup>17</sup>.

### 2.3.11. Nitrik Oksit (NO)

İneklerde meme bezi enfeksiyonu şekillendiğinde TNF-alfa, IL-1beta, IL-6, IL-8 ve NO gibi sitokinlerin miktarının arttığı bildirilmiştir. Subklinik mastitisli ineklerde NO düzeyinin sağlıklı olan meme bezine göre daha yüksek olduğu bulunmuştur<sup>38</sup>.

## 3.KAZANILMIŞ BAĞIŞIKLIK

Kazanılmış bağışıklığın mikrobiyal maruziyetten sonra gelişmesi doğuştan gelen bağışıklığa göre daha uzun sürer. Ancak patojenlerin doğuştan gelen savunma sistemi tarafından tamamen yok edilememesi kazanılmış bağışıklığı giderek daha önemli hale getiriyor. Kazanılmış bağışıklık, antijenler olarak adlandırılan bakteriyel patojenlerle ilişkili spesifik faktörlere karşı bağışıklık tepkilerini ortaya çıkarabilir. Uyarlanabilir bağışıklık sisteminin büyüleyici bir özelliği, bir hayvanın karşılaşabilecekleri milyarlarca benzersiz antijeni tanıma ve bunlara yanıt verme yeteneğidir. Bir antijenle birden fazla karşılaşıldığında, immünolojik hafızanın bir sonucu olarak yüksek bir immün reaktivite durumu ortaya çıkar. Bu nedenle, bir hafıza tepkisi, belirli bir antijene ilk maruz kalmaya kıyasla çok daha hızlıdır, oldukça güçlüdür, daha uzun sürer ve genellikle patojenleri temizlemede daha etkilidir. Adaptif bağışıklık tepkilerinin belirli bir patojene tekrar tekrar maruz kalmayla güçlendirilme yeteneği, mastitis aşısı stratejilerinin temelini sağlar. Bağışıklık sistemi kendini kendinden olmayandan ayırt edebilir ve sadece yabancı antijenlere seçici olarak tepki verir. Yalnızca yabancı antijenleri tanıma yeteneğine, MHC molekülleri adı verilen, genetik olarak çeşitli zara bağlı proteinler aracılık eder. Spesifik bir bağışıklık tepkisi, yalnızca antijenler belirli hücrelerin yüzeyinde bir MHC molekülü ile birleştirildiğinde, antijen sunumu olarak adlandırılan bir süreçte ortaya çıkar.



### 3.1. Kazanılmış Bağışıklık İmmünolojik Savunma Hücreleri

Lenfositler, meme bezinde çok miktarda bulunurlar ve meme bezinin bütünlüğünün sağlanmasında önemli rol oynarlar. Lenfositler, istilacı patojene özgü membran reseptörleri aracılığıyla bakteriyel antijenleri tanırlar. Bunlar, adaptif bağışıklığın özgüllük, çeşitlilik, hafıza ve kendini/öz olmayana tanıma gibi tanımlayıcı özelliklerine aracılık eden hücrelerdir. T hücreleri ve B hücreleri, protein ürünlerinin fonksiyon ve ekspresyon profillerinde farklılık gösteren farklı lenfosit alt gruplarıdır. Lenfositler, meme bezinde çok miktarda bulunurlar ve meme bezinin bütünlüğünün sağlanmasında önemli rol oynarlar<sup>39</sup>.

#### 3.1.1. T lenfositler

T lenfositler; CD4+ (yardımcı T [TH ] ) ve CD8+ (T-sitotoksik [Tc]) hücreleri ve gamma delta T hücrelerini içeren alfa beta T hücrelerine bölünebilir. Sağlıklı bir ineğin meme bezinde en çok alfa beta T lenfosit hücreleri bulunur ve bunların çoğunluğunu da CD8+ hücreleri oluşturmaktadır<sup>14</sup>.

*Escherichia coli* mastitisi sırasında, memeye göç eden CD4+ hücrelerinin humoral ve hücrel immunitiyi ayarladığı ve bölgenin koruma mekanizmasını güçlendirdiği belirlenmiştir<sup>40</sup>. Kronik *Staphylococcus aureus* enfeksiyonunda meme bezinde CD8+ lenfositlerinin önemli rol oynadığı görülmüş, CD8+ T lenfositlerin CD4+ T lenfositlere göre daha aktif olduğu tespit edilmiştir<sup>41</sup>.

Sitotoksik T hücreleri, hücrelerinin meme bezindeki eski veya hasar görmüş salgı hücrelerini ortadan kaldıran çöpçüler olarak işlev görebileceğine dair bazı spekülasyonlar vardır. Tc hücrelerinin baskılayıcı fonksiyonları, enfekte meme bezlerinde veya doğum öncesi dönemde aktive olabilir ve bu koşullar altında bozulmuş yerel savunmalara katkıda bulunabilir<sup>7</sup>.

Sitotoksik T hücresi alt grubundan olan baskılayıcı T hücresi (Tc), CD4+ hücrelerinin çoğalması ve baskılanmasından sorumludur<sup>40</sup>. Gamma delta T hücrelerinin, MHC sınıf I moleküllerinin değişken katılımıyla sitotoksisiteye aracılık edebildiğine dair göstergeler vardır<sup>42</sup>.

#### 3.1.2. B lenfositler

B hücrelerinin birincil rolü, istilacı patojenlere karşı immünglobülin (Ig) olarak da adlandırılan antikorlar üretmektir. B hücreleri patojenleri tanımak için zara bağlı antikor moleküllerini kullanır. Laktasyon evresinde B lenfosit düzeyi %5'ten daha düşüktür<sup>41</sup>.

#### 3.1.3. Makrofajlar

Makrofajlar; sütte, sağlıklı ve emziren meme bezlerinin dokularında bulunan baskın bir hücre tipidir. Bu hücreler, fagositler ve inflamatuvar mediatörlerin üretimi gibi erken doğuştan gelen bağışıklık yanıtlarında bir role sahipken, makrofajlar ayrıca antijen işleme ve sunumunda da önemli bir rol oynar. Yutulmuş bakterilerden gelen antijenler, makrofajlar içinde işlenir ve MHC sınıf II molekülleri ile hücre yüzeyinde görünür. Naif bir TH hücresi, MHC sınıf II molekülleri ile kompleks oluşturan antijenle karşılaştığında, daha önce açıklandığı gibi çoğalabilir ve hafıza hücrelerine ve sitokin üreten efektör hücrelere farklılaşabilir.

#### 3.1.4. Plazma Hücresi

B hücreleri antijenle uyarıldıklarında antikor sentezleyen plazma hücrelerine dönüşmektedir. Çoğalma yetenekleri yoktur ve ömürleri çok kısadır. Olgunlaşmış B hücreleri plazma hücresine dönüştüğü zaman sentezlediği immünoglobülinlerin %90'a yakın bir bölümü dışarı salgılanır.

### 3.2. Humoral Savunma Sistemi

#### 3.2.1. İmmünglobülinler

Antikorlar, kazanılmış immün yanıtın humoral bileşenini olarak işlev görür. Meme bezi savunmasını etkileyen antikorlar IgG1, IgA ve IgM'dir. IgG meme sekresyonu içerisinde IgG1 ve IgG2 olarak bulunur. IgG1 kandan özel taşıma sistemleri ile memeye taşınır. IgA ve IgM ise plazma hücreleri tarafından salgılanır. Laktasyonda olmayan meme lobunun enfeksiyonunda sadece IgA antikorlarının üretildiği görülmüştür. Sistemik uyarımlar sonucu IgG1 ve IgM'nin düzeyi artarken, lokal uyarımlar sonucu yalnızca IgA düzeyi artar.

Ruminantlarda sağlıklı bir meme bezinde IgG1 düzeyi daha yüksek iken mastitisli meme bezinde IgG2 düzeyi daha yüksektir<sup>1</sup>. Yapılan araştırmalar IgG ve IgM'nin nötrofil ve makrofajların fagositozunu güçlendirerek etki ettiklerini göstermiştir<sup>4</sup>. IgA ise meme bezinde bakterilerin tutulmasını engeller. Yapılan bir çalışmada *Corynebacterium cutis lysate*'nin süt IgG düzeylerini arttırdığı belirlenmiştir<sup>43</sup>.

#### 4. MASTİTİS RİSKİNİN AZALTILMASI

Meme başı antisepsisi, meme bezi savunmasının bu ilk hattını oluşturduğu için önemlidir. Bu konu da en kolay ve etkili yöntemin teat dipping uygulaması olduğu söylenebilir<sup>44</sup>.

Elle sağım, memeye uygulanan basınca bağlı olarak, az ya da yüksek düzeyde bir travma oluşturulabilmektedir. Makineli sağım ise uygulanan basınç ve pulzasyona bağlı olarak sütün tamamen boşaltılmaması gibi olumsuzluklar yaşanabilmektedir<sup>45</sup>. İşletmede uygulanan sağım şekline göre bu hususlara dikkat edilmelidir.

Meme başlarının dezenfektana batırılarak dezenfekte edilmesi, yıkanabilir havlular kullanılması, serbest duraklı ahırlar, meme temizliğinde ıslak tek kullanımlık mendil, sağım sırasında eldiven giyilmesi gibi yönetim uygulamaları yapılmalıdır<sup>46</sup>.

Dengeli bir mikro besin kaynağı bağışıklık tepkilerini optimize etmede ve çevredeki hastalık direncini artırmada önemli bir role sahiptir. Mikrobelerin mastitisi kontrol etmedeki immün düzenleyici özellikleri hakkındaki güncel bilgilerin çoğu selenyum (Se), E vitamini, A vitamini, bakır ve çinko üzerine odaklanmaktadır. Doğumdan sonraki erken dönemde mastitisi önlemek için geç gebelik döneminde ineklere E ve Se vitamini takviyesinin, klinik mastitis insidansını ve şiddetini etkili bir şekilde azalttığı ve aynı zamanda yeni meme içi oluşumunu önlediği kanıtlanmıştır. A vitamini, bakır ve çinkonun, gelişmiş mastitis direnci için gerekli olan bağışıklık tepkilerini optimize edebilen önemli immün düzenleyici işlevlere sahip olduğunu öne süren ikna edici veriler de mevcuttur<sup>5</sup>. Yeme önerilen dozlarda vitamin ve mineral eklemek meme bezi bağışıklığını artırmanın ve mastitis insidansını azaltmanın pratik bir yoludur.

İnflamatuar bir yanıt sırasında, nötrofiller ve makrofaj, istilacı bakterileri öldürmek amacıyla büyük miktarlarda reaktif oksijen türleri (ROS) üretir. ROS'un meme bezi dokularına ve bağışıklık hücresi popülasyonlarına dahil edilebilmeleri için diyet tarafından yeterli miktarda antioksidan alınması önemlidir.

Sitokinler, bağışıklık tepkilerini artırma ve meme içi enfeksiyonları azaltma veya önleme kapasiteleri açısından araştırılan bir immünomodülatör sınıfıdır<sup>7</sup>. Bugüne kadar yapılan rekombinant sitokin çalışmaları, IL-1, IL-2, granülosit-CSF (G-CSF) ve IFN-gamma'yı içerir. Mevcut veriler, bu rekombinant sitokinlerin, hem doğal hem de adaptif bağışıklıkta yer alan hücrelerin fonksiyonel yeteneklerini artırabileceğine dair ikna edici kanıtlar sunmaktadır.

Aşılama da hayvanlarda mastitise karşı doğal immüniteyi arttırmak için kullanılan bir yöntemdir. Aşılama enfekte memede immüno globülinlerin lokal üretimini arttırılmasında etkilidirler<sup>9</sup>. Mastitis aşılarının immünolojik temeli, spesifik antijenik determinantlara karşı adaptif immün yanıtı uyarmaktır<sup>28</sup>. Aşı geliştirmeye yönelik önceki çabaların çoğu, *S. aureus* veya *E. coli* mastitis'i hedef almıştır.

Subklinik mastitis tedavisinde meme içi platelet konsantrisi uygulamasının meme içi antibiyotik kullanımına alternatif olabileceği sonucuna ulaşıldı<sup>47</sup>. Mastitisli memeden elde edilen süt, halk sağlığı açısından tehlike oluşturmaktadır. Mastitis tedavi protokollerinde en çok antibiyotik tedavisi uygulanır. Antibiyotik fazla ve gereksiz kullanımı da antibiyotik dirençliliğinin gelişmesine sebep olabilir. Meme bezinin savunma mekanizmalarının desteklenmesi mastitis riskinin azaltılmasının yanı sıra antibiyotik kullanımını da sınırlandırdığı için önemlidir<sup>48,49</sup>.

#### 5.KAYNAKÇA

1. Aitken SL, Corl CM, Sordillo LM. Immunopathology of mastitis: Insights into disease recognition and resolution. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 2011;16(4). doi:10.1007/s10911-011-9230-4

2. Kaçar C, Kırşan İ. Memenin Savunma Mekanizmaları. In: Kaymaz M, Fındık M, Rışvanlı A, Köker A, eds. *Evcil Hayvanlarda Meme Hastalıkları* . Vol 1. 1st ed. Medipres Matbaacılık Yayıncılık Medikal Veterinerlik Hizmetleri Hayvansal Ürünler Tic. ve Paz. Ltd. Şti.; 2017:39-58.
3. Seker I, Risvanli A, Yuksel M, Saat N, Ozmen O. Relationship between California mastitis test score and ultrasonographic teat measurements in dairy cows. *Aust Vet J*. 2009;87(12). doi:10.1111/j.1751-0813.2009.00520.x
4. Sordillo LM. Factors affecting mammary gland immunity and mastitis susceptibility. In: *Livestock Production Science*. Vol 98. ; 2005. doi:10.1016/j.livprodsci.2005.10.017
5. Sordillo LM. Mammary Gland Immunobiology and Resistance to Mastitis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2018;34(3):507-523. doi:10.1016/J.CVFA.2018.07.005
6. Smolenski GA, Cursons RT, Hine BC, Wheeler TT. Keratin and S100 calcium-binding proteins are major constituents of the bovine teat canal lining. *Vet Res*. 2015;46(1). doi:10.1186/s13567-015-0227-7
7. Sordillo LM, Streicher KL. Mammary gland immunity and mastitis susceptibility. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 2002;7(2). doi:10.1023/A:1020347818725
8. Chiu D, Hurley K, Riley A, Wang Y. Internalizing and Externalizing Behaviors: Associations with Food Consumption in US Adolescents. *The FASEB Journal*. 2015;29(S1). doi:10.1096/fasebj.29.1\_supplement.900.16
9. Sordillo LM, Shafer-Weaver K, DeRosa D. Immunobiology of the Mammary Gland. In: *Journal of Dairy Science*. Vol 80. ; 1997. doi:10.3168/jds.S0022-0302(97)76121-6
10. Adlerova L, Bartoskova A, Faldyna M. Lactoferrin: A review. *Vet Med (Praha)*. 2008;53(9). doi:10.17221/1978-VETMED
11. Conneely OM. Antiinflammatory Activities of Lactoferrin. *J Am Coll Nutr*. 2001;20. doi:10.1080/07315724.2001.10719173
12. Kutila T, Pyörälä S, Saloniemi H, Kaartinen L. Antibacterial effect of bovine lactoferrin against udder pathogens. *Acta Vet Scand*. 2003;44(1-2).
13. Leitner G, Shoshani E, Krifucks O, Chaffer M, Saran A. Milk leucocyte population patterns in bovine udder infection of different aetiology. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*. 2000;47(8). doi:10.1046/j.1439-0450.2000.00388.x
14. Oviedo-Boyso J, Valdez-Alarcón JJ, Cajero-Juárez M, et al. Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. *Journal of Infection*. 2007;54(4). doi:10.1016/j.jinf.2006.06.010
15. Rainard P, Riollet C. Innate immunity of the bovine mammary gland. *Vet Res*. 2006;37(3). doi:10.1051/vetres:2006007
16. Ryman VE, Packiriswamy N, Sordillo LM. Role of endothelial cells in bovine mammary gland health and disease. *Anim Health Res Rev*. 2015;16(2). doi:10.1017/S1466252315000158
17. Summers C, Rankin SM, Condliffe AM, Singh N, Peters AM, Chilvers ER. Neutrophil kinetics in health and disease. *Trends Immunol*. 2010;31(8). doi:10.1016/j.it.2010.05.006
18. Paape MJ, Shafer-Weaver K, Capuco A v., van Oostveldt K, Burvenich C. Immune surveillance of mammary tissue by phagocytic cells. *Adv Exp Med Biol*. 2000;480. doi:10.1007/0-306-46832-8\_31
19. Barber MR, Yang TJ. Chemotactic activities in nonmastitic and mastitic mammary secretions: Presence of interleukin-8 in mastitic but not nonmastitic secretions. *Clin Diagn Lab Immunol*. 1998;5(1). doi:10.1128/cdli.5.1.82-86.1998
20. Boulanger D, Bureau F, Mélotte D, Mainil J, Lekeux P. Increased nuclear factor κB activity in milk cells of mastitis-affected cows. *J Dairy Sci*. 2003;86(4). doi:10.3168/jds.S0022-0302(03)73710-2

21. Paape MJ, Capuco A v, Guidry AJ, Burvenich C. Morphology, Function, and Adaptation of Mammary Cells in Normal and Disease States. *J Anim Sci.* 1995;73(suppl\_2). doi:10.2527/1995.73suppl\_21x
22. Rainard P. The complement in milk and defense of the bovine mammary gland against infections. *Vet Res.* 2003;34(5). doi:10.1051/vetres:2003025
23. Günther J, Liu S, Esch K, Schuberth HJ, Seyfert HM. Stimulated expression of TNF- $\alpha$  and IL-8, but not of lingual antimicrobial peptide reflects the concentration of pathogens contacting bovine mammary epithelial cells. *Vet Immunol Immunopathol.* 2010;135(1-2). doi:10.1016/j.vetimm.2009.11.004
24. Lippolis JD, Reinhardt TA, Goff JP, Horst RL. Neutrophil extracellular trap formation by bovine neutrophils is not inhibited by milk. *Vet Immunol Immunopathol.* 2006;113(1-2). doi:10.1016/j.vetimm.2006.05.004
25. Grinberg N, Elazar S, Rosenshine I, Shpigel NY.  $\beta$ -hydroxybutyrate abrogates formation of bovine neutrophil extracellular traps and bactericidal activity against mammary pathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun.* 2008;76(6). doi:10.1128/IAI.00051-08
26. Kurt S, Eski F, Mis L, Ayvazoglu Demir P. Staphylococcus aureus İle Doğal Olarak Enfekte Olan Klinik ve Subklinik Mastitisli İneklerin Süt ve Serumlarında Oksidatif Stres, Bağışıklık Sistemi ve Mineral Konsantrasyonlarının Değerlendirilmesi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* Published online 2021. doi:10.9775/kvfd.2021.26281
27. Lee JW, Bannerman DD, Paape MJ, Huang MK, Zhao X. Characterization of cytokine expression in milk somatic cells during intramammary infections with *Escherichia coli* or *Staphylococcus aureus* by real-time PCR. *Vet Res.* 2006;37(2). doi:10.1051/vetres:2005051
28. Sordillo LM. Symposium review: Oxylipids and the regulation of bovine mammary inflammatory responses1. *J Dairy Sci.* 2018;101(6). doi:10.3168/jds.2017-13855
29. Alluwaimi AhmedM. The bovine mammary glands cytokines at the periparturient period. *Scientific Journal of King Faisal University (Basic and Applied Sciences).* 2007;8(1):121-130.
30. Rambeaud M, Almeida RA, Pighetti GM, Oliver SP. Dynamics of leukocytes and cytokines during experimentally induced *Streptococcus uberis* mastitis. *Vet Immunol Immunopathol.* 2003;96(3-4). doi:10.1016/j.vetimm.2003.08.008
31. Zhao X, Lacasse P. Mammary tissue damage during bovine mastitis: causes and control. *J Anim Sci.* 2008;86(13 Suppl). doi:10.2527/jas.2007-0302
32. Mattmiller SA, Carlson BA, Sordillo LM. Regulation of inflammation by selenium and selenoproteins: Impact on eicosanoid biosynthesis. *J Nutr Sci.* 2013;2. doi:10.1017/jns.2013.17
33. Atroshi F, Sankari S, Rizzo A, Westermarck T, Parantainen J. Prostaglandins, glutathione metabolism, and lipid peroxidation in relation to inflammation in bovine mastitis. In: *Advances in Experimental Medicine and Biology.* Vol 264. ; 1990. doi:10.1007/978-1-4684-5730-8\_33
34. Wang Y, Armando AM, Quehenberger O, Yan C, Dennis EA. Comprehensive ultra-performance liquid chromatographic separation and mass spectrometric analysis of eicosanoid metabolites in human samples. *J Chromatogr A.* 2014;1359. doi:10.1016/j.chroma.2014.07.006
35. Östensson K, Lun S. Transfer of immunoglobulins through the mammary endothelium and epithelium and in the local lymph node of cows during the initial response after intramammary challenge with *E. coli* endotoxin. *Acta Vet Scand.* 2008;50(1). doi:10.1186/1751-0147-50-26
36. Sanchez MS, Ford CW, Yancey RJ. Effect of Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ , Interleukin-1 $\beta$ , and Antibiotics on the Killing of Intracellular *Staphylococcus aureus*. *J Dairy Sci.* 1994;77(5). doi:10.3168/jds.S0022-0302(94)77064-8
37. Sordillo LM, Peel JE. Effect of Interferon- $\gamma$  on the Production of Tumor Necrosis Factor During Acute *Escherichia coli* Mastitis. *J Dairy Sci.* 1992;75(8). doi:10.3168/jds.S0022-0302(92)77971-5

38. Atakisi O, Oral H, Atakisi E, et al. Subclinical mastitis causes alterations in nitric oxide, total oxidant and antioxidant capacity in cow milk. *Res Vet Sci.* 2010;89(1). doi:10.1016/j.rvsc.2010.01.008
39. Asai KI, Komine Y, Kozutsumi T, Yamaguchi T, Komine KI, Kumagai K. Predominant subpopulations of T lymphocytes in the mammary gland secretions during lactation and intraepithelial T lymphocytes in the intestine of dairy cows. *Vet Immunol Immunopathol.* 2000;73(3-4). doi:10.1016/S0165-2427(00)00158-6
40. Mehrzad J, Janssen D, Duchateau L, Buryenich C. Increase in Escherichia coli inoculum dose accelerates CD8+ T-cell trafficking in the primiparous bovine mammary gland. *J Dairy Sci.* 2008;91(1). doi:10.3168/jds.2007-0096
41. Riollet C, Rainard P, Poutrel B. Cell subpopulations and cytokine expression in cow milk in response to chronic Staphylococcus aureus infection. *J Dairy Sci.* 2001;84(5). doi:10.3168/jds.S0022-0302(01)74568-7
42. Baldwin CL, Telfer JC. The bovine model for elucidating the role of  $\gamma\delta$  T cells in controlling infectious diseases of importance to cattle and humans. *Mol Immunol.* 2015;66(1). doi:10.1016/j.molimm.2014.10.024
43. Saat N, Yüksel M, Toraman AZ, Rısvanlı A. The efficiency of Corynebacterium cutis lysate in cows with subclinical mastitis. *Res Opin Anim Vet Sci.* 2016;6(3):108-110.
44. Saat N, Yılmaz Ö, Yüksel BF, et al. Türkiye’de farklı niteliklere sahip süt sığırı işletmelerinde mastitisin koruma ve kontrolü kapsamındaki bazı uygulamaların düzeyleri. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences.* 2021;37(2). doi:10.15312/eurasianjvetsci.2021.334
45. Tavşanlı H, Ektik N, Saat N, İlhan Z. Keçi sütü somatik hücre sayısı eşik değerlerinin diğer süt parametreleri ile karşılaştırılarak subklinik mastitisin tanısında kullanılabilirliği. *Izmir Democracy University Health Sciences Journal.* Published online 2021. doi:10.52538/duhes.1031187
46. Rısvanlı A, Seker I, Saat N, Karagülle B, Koseman A, Kaygusuzoğlu E. The management practices and microbiological quality of a dairy farm with low bulk tank milk somatic cell count. *Pak Vet J.* 2017;37(2).
47. Evkuran Dal G, Sabuncu A, Aktaran Bala D, et al. Sütçü İneklerde Subklinik Mastitis Tedavisinde Meme İçi Platelet Konsantresi Etkinliğinin Somatik Hücre Sayımı ve Süt Amiloid A Seviyeleri İle Değerlendirilmesi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* Published online 2019. doi:10.9775/kvfd.2018.20982
48. Saat N, Tavşanlı H, İlhan Z. Klinik Olarak Sağlıklı Görünen Keçilerden Alınan Sütlerin Somatik Hücre Sayısı ve Bakteriyolojik Yönden İncelenmesi. *Kocatepe Veterinary Journal.* Published online 2021. doi:10.30607/kvj.978222
49. Sarıçam İnce S, Baştan A, Salar S, Dikmeoğlu E, Oğuz T, Akan M. Keçi Mastitisinde Bakteriye İzolasyon ve Antimikrobiyal Direnç Profillerinin Tespiti. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* Published online 2021. doi:10.9775/kvfd.2021.26239

**RESPONSE OF DRY MATTER ACCUMULATION, YIELD AND BREAD-MAKING QUALITY OF BREAD WHEAT TO ORGANIC AND INORGANIC FERTILIZATION****EKMEKLİK BUĞDAY BİTKİSİNDE KURU MADDE BİRİKİMİ, VERİM VE EKMEKLİK KALİTE ÖZELLİKLERİNİN ORGANİK VE İNORGANİK GÜBRELEMeye TEPKİLERİ***Ali YİĞİT**Aydın Adnan Menderes University, Faculty of Agriculture, Department of Field Crops, Aydın, Türkiye**ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3303-5122>***ABSTRACT**

Soil is the primary resource of plant nutrients and includes billions of insects, bacteria, worms also many other microorganisms as well as ensure water availability for crop production. Sustainable soil management has been a substantial issue in recent years due to the heightening of environmental awareness. High dependence on chemical fertilizers has virtually affected soil health with the effects of global climate change causing greater damage to soil fertility and crop productivity. Additionally, its effects on soil and crop health, and the increase in the cost of chemical fertilizers in wheat production also led the farmers to use organic fertilizers. For this purpose, the effects of different fertilization applications (no fertilizer (control), chemical, farmyard manure, and combined (farmyard manure+chemical)) on dry matter accumulation, yield, and bread-making quality properties of bread wheat cultivars (Osmaniyem and Masaccio) were investigated. Dry matter content (%) in different phenological growth stages (ZGS 22, 31, 51, 61, and 71), grain yield (kg ha<sup>-1</sup>), sedimentation volume (ml), wet gluten (%), gluten index (%) and dry gluten (%) properties monitored in a field experiment. According to the data obtained from the experiment chemical fertilization contributed greatly to the dry matter accumulation and had the highest dry matter content (54.7% DM) in milk development stage. Besides dry matter content, chemical fertilization also came to the forefront according to the highest grain yield (5253 kg ha<sup>-1</sup>), sedimentation volume (25.3 ml), and gluten index (94.2%) values that provide both high yield and gluten quality. It is certain that chemical fertilization reacts quickly in wheat development and has advantages and greater contributions to yield. However, combination fertilization (farmyard manure+chemical) application has also higher values for yield (4843 kg ha<sup>-1</sup>), wet gluten (54.0%), and dry gluten (17.5%) so it may alter to obtain better yield and bread-making quality values. The application of farmyard manure fertilizer in combination with chemical fertilizers will reveal positive impacts such as improving environmental and economic benefits due to the sustainability of wheat production.

**Keywords:** Bread wheat, fertilizers, nitrogen, sustainable agriculture, yield, gluten.

**1. INTRODUCTION**

Wheat is one of the first domesticated food crops grown almost everywhere (except Antarctica) and cultivates on more land area than any other crop for 8000 years it has been the basic staple food of civilizations. Bread wheat (*Triticum aestivum* L.) has more varieties than any other cereal crop approximately 5000 cultivars of bread wheat in current use (Braun et al. 2010; Faostat, 2022). It has strategic importance in economic, food safety, and healthy nourishment issues according to consumption on a worldwide scale and the nutrition of civilizations. Achieving high yield values in wheat production is important both economically and strategically under changing climate conditions for all countries.

Nitrogen fertilization is one of the most effective factors means to promote wheat growth and improve grain yield. The optimum N fertilization rate depends on a variety of factors including soil N and organic matter content, genetic utilization, and local climate condition properties (Ryan et al. 1998; Ryan et al. 2012). Intensive use and high dependence on chemical fertilizers have adverse effects on soil productivity resulting in yield losses and high input costs cause farmers to experience economic losses.

Organic matter content is deficient in Türkiye's agricultural soils and nitrogen with only 6% of it having enough of these nutrients to support enough crop growth (Özkan et al. 2021). Therefore using organic fertilizers have great impacts on eliminating plant nutrition, and organic matter deficiency and ensuring healthy soils.

N availability is frequently the main determinant of yield and protein in wheat, adequate amount of nitrogen is very important in achieving both optimal yield and protein amount. While baking quality of wheat typically increases with higher grain protein content which is a major indicator of bread-making quality, extremely high protein content may result in decreased bread-making quality results (Thomason et al. 2007). Nitrogen fertilization studies mainly aim to reach both higher yield and bread-making quality values by providing the optimum level of nitrogen from soil to the wheat plant. Application of organic manure in conjunction with mineral fertilizers can improve positively soil properties, wheat growth and nutrient uptake (Phullan et al. 2017). The combination of organic manures and mineral fertilizers has a great contribution to optimizing soil nutrient pool, increasing yield, and efficiency of water use (Zhang et al. 2016).

In wheat, assimilate mobilization to grain originate from both current assimilate storage and remobilization of them stored in vegetative organs. Nitrogen can affect dry matter accumulation and remobilization after anthesis (Duan et al., 2014). In recent years farmers' interest in organic fertilizers has increased due to economic reasons and evaluating farm wastes. For this reason, it is wondered how organic and chemical fertilization supplies affect dry matter accumulation during vegetative and generative growth stages and results in yield and bread-making quality properties due to the economical contribution and sustainability of wheat production.

## 2. MATERIAL AND METHOD

The field experiment was laid out in Aydın Adnan Menderes University, Faculty of Agriculture, Research and Application Farm with Mediterranean climate conditions during 2021/22 wheat growing season. The experimental design was set up according to the randomized split-plot design with three replications. Plot size and sowing distance between rows were 1.2 x 6 m and 20 cm, respectively. Masaccio and Osmaniye cultivars were sown, and 4 different fertilization applications were applied. The application of fertilizers was as follows; control (no fertilizer application), farmyard manure (applied dose 40 tons ha<sup>-1</sup>), chemical fertilization (applied as pure N and total amount was 180 kg ha<sup>-1</sup>: before sowing+tillering+stem elongation) and combination (applied dose 20 tons ha<sup>-1</sup> farmyard manure + 90 kg ha<sup>-1</sup> chemical fertilization: before sowing+tillering+stem elongation).

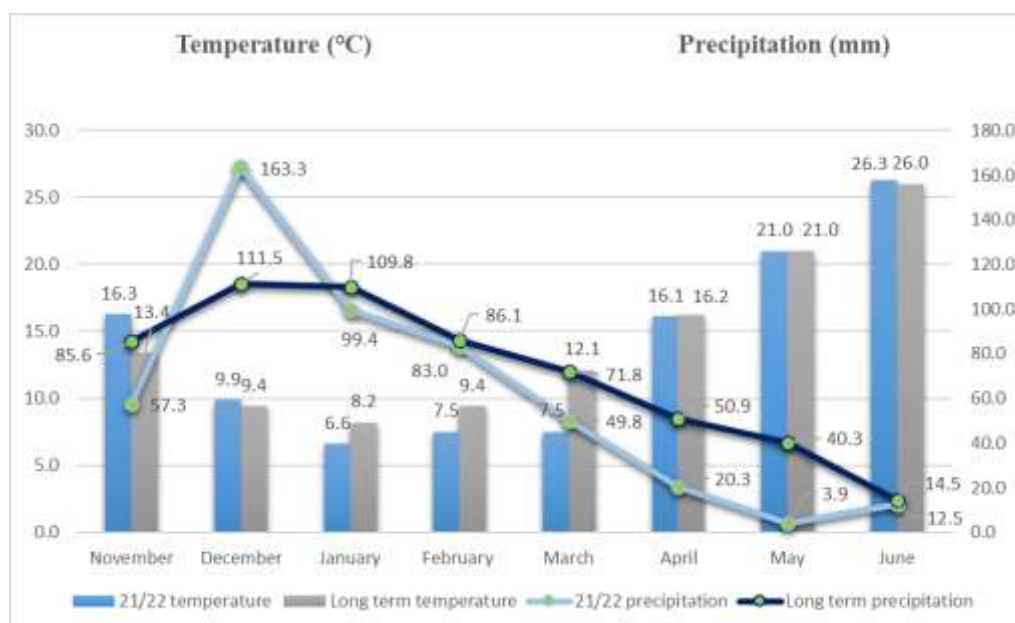


Figure 1. Monthly and long term (1985-2019) climate values of the experiment

The experimental soil had sandy loam texture with slightly alkaline reaction, and the amount of organic matter was very low (0.98%). Pest control for each treatment during the experiment and the whole growth period was carried out according to local farmers' habits. For this purpose; 25% triosulfuron and 50% Dicamba and 240 g/l Clodinafop-propargyl herbicides were applied for weed control in the tillering growth stage (Zadoks 20), 150 g Pyraclostrobin and 75 g Fluxapyroxad/ 1 lt. fungicide was applied to control *Puccinia striiformis* West. and *P. recondita tritici* Rob. et. Desm in the ear emergence (Zadoks 50) growth stage. Dry matter content was measured from tillering to milk development stage with 5 different growth stages (tillering (Zadoks 22), stem elongation (Zadoks 31), ear emergence (Zadoks 51), flowering (Zadoks 61) and grain filling period (milk development: Zadoks 71). Samples of 10 plants were collected from each plot and sent to the laboratory to measure dry matter content. The quantity of fresh and dry matter was estimated by measuring the weight of the samples of collected plants with fresh weight then dried for 48 hours at 80 °C cooled and weighed again after that dry weight results were obtained (Astaoui et al., 2021).

Plots were harvested by using BCS<sup>®</sup> 615 L Max Lawn mover machine with the removal of the border lines in each plot and then grains were obtained by ear thresher machine after that grain yield (kg ha<sup>-1</sup>) was calculated. After harvesting grain samples were milled by using UDY Corporation cyclone sample mill<sup>®</sup> and then the flour extraction rate was adjusted to 65-69% for analyzing bread-making quality properties.

The parameters wet, dry, and gluten index were determined by ICC standards 137/1 and 155 using a glutomatic instrument (Bastak<sup>®</sup> Co, Türkiye). Dough was prepared from a flour sample by adding a saline solution (2% NaCl) and wet gluten was subsequently washed to separate gluten from other components. Sedimentation values were determined by ICC standards 116/1 and flour (3.2 g) was weighed and mixed for 5 min. in a 100 ml cylinder. After that test solutions were added 3.5 % lactic acid and 17.5 % isopropanol, the cylinder was shaken for 10 min. and the volume of sediment was measured (Ereku and Köhn, 2006).

Statistical analysis was carried out by using the R program. The mean values were calculated according to the LSD multiple comparison method using 'agricole' package (de Mendiburu and de Mendiburu, 2019), and heat map was created according to the heatmap.2 command within the 'gplots' package (Warnes et. al., 2022).

### 3. RESULTS AND DISCUSSION

#### 3.1 Yield (kg ha<sup>-1</sup>)

The response of grain yield indices to different fertilization treatments is given in Table 1. Based on the analysis of variance results, a significant effect of farmyard manure and chemical fertilization was observed for all cultivars in grain yield.

Table 1. Effect of organic manure and chemical fertilization on yield

Application/Cultivar	Osmaniyem	Masaccio	Mean Application
Control	2755 d	2965 d	2860 D
Manure	3452 c	3487 c	3469 C
Chemical	4904 b	5602 a	5253 A
Combination	3594 c	4843 b	4218 B
Mean Cultivar	3676 B	4224 A	
Lsd Application: 366**; Lsd Cultivar: 173**; Lsd Interaction: 384**			

In the study, fertilizer application, cultivar and interaction have been found statistically significant ( $p < 0.01$ ) for grain yield. In terms of grain yield, among the cultivars, Masaccio (4224 kg ha<sup>-1</sup>) had the highest mean value and Osmaniyem (3676 kg ha<sup>-1</sup>) cultivar had the lowest value. The response of grain yield varied depending on farmyard manure and chemical fertilization applications. Chemical nitrogen fertilization enhanced grain yield approx. 83% compared to control and 21% compared to farmyard manure application. Grain yield showed a clear response to the chemical N fertilization with the highest value (5602 kg ha<sup>-1</sup>) also combination caused an increase in Masaccio cultivar with the high value (4843 kg ha<sup>-1</sup>) (Figure 2). Non-application of fertilizers had the lowest values (2755 and 2965 kg ha<sup>-1</sup>) for both



cultivars. Application of farmyard manure produce significantly higher grain yield and harvest index while significantly lower grain yield and harvest index were recorded under non-applied fertilizer conditions (Kavinder et al. 2019). Farmyard manure and combination applications had the same statistical level for Osmaniye but using farmyard manure and chemical nitrogen fertilizer caused an increase for Masaccio. The combination of fertilizers had positive effects of grain yield (Borghi et al. 1995). Overall the applications, of farmyard manure did not effectively achieve higher yield values alone but application with chemical fertilization caused an important increase in grain yield, especially for Masaccio cultivar. Chemical nitrogen fertilization came to the forefront according to bread wheat yield values between all applications, but Masaccio cultivar also responded to increasing yield value with the combination of fertilizers.

### 3. 2 Dry Matter content (% dm)

Dry matter content varied and changed statistically significantly with the fertilizer applications in each wheat growth stage at the level of 0.01. The effect of cultivar on dry matter content also was significant during wheat growth stages except for flowering dry matter content. Interaction of applications and cultivars also caused statistically significant differences in dry matter content of observed all growth stages at the level of 0.01.

Table 2. Dry matter accumulation based on wheat growing stages

	Application/Cultivar	Osmaniye	Masaccio	Mean Application
Dry matter ZGS 22	Control	25.8 b	26.0 b	25.9 A
	Manure	24.2 c	23.2 cd	23.7 B
	Chemical	27.3 a	20.6 e	24.0 B
	Combination	22.6 d	18.5 f	20.6 C
	Mean Cultivar	25.0 A	22.1 B	
Lsd Application: 0.93**; Lsd Cultivar: 0.63**; Lsd Interaction: 1.16**				
Dry matter ZGS 31	Control	27.3 ab	25.7 b	26.5 B
	Manure	28.8 a	28.1 a	28.5 A
	Chemical	28.2 a	23.6 c	25.9 B
	Combination	22.1 c	23.0 c	22.5 C
	Mean Cultivar	26.6 A	25.1 B	
Lsd Application: 1.29**; Lsd Cultivar: 1.27*; Lsd Interaction: 2.07**				
Dry matter ZGS 51	Control	31.5 bc	29.9 c	30.7 A
	Manure	32.7 b	26.7 d	29.7 A
	Chemical	37.9 a	26.2 d	32.0 A
	Combination	25.6 d	25.5 d	25.5 B
	Mean Cultivar	31.9 A	27.0 B	
Lsd Application: 2.48**; Lsd Cultivar: 0.89*; Lsd Interaction: 1.60**				
Dry matter ZGS 61	Control	40.2 abc	38.4 bc	39.3
	Manure	43.0 ab	40.2 abc	41.6
	Chemical	44.8 a	44.5 a	44.6
	Combination	35.3 c	38.8 ba	37.0
	Mean Cultivar	40.8	40.5	
Lsd Interaction: 5.59**				
Dry matter ZGS 71	Control	48.5 c	55.1 a	51.8 B
	Manure	50.9 bc	53.4 ab	52.1 AB
	Chemical	55.1 a	54.3 ab	54.7 A
	Combination	47.7 c	48.5 c	48.1 C
	Mean Cultivar	50.6 B	52.8 A	
Lsd Application: 2.82**; Lsd Cultivar: 2.10*; Lsd Interaction: 3.74**				

In tillering period, the control application had the highest dry matter content (25.9%) and the combination application had the lowest (20.6%) dry matter content. Osmaniye cultivar had the highest dry matter content in tillering period with chemical fertilization (27.3%) and the lowest value was observed in Masaccio with chemical fertilization (Figure 2). Osmaniye responded with the highest value tillering period dry matter content, and this may be related to higher N accumulation applied in the tillering period (Table 2).

In stem elongation period, the highest dry matter content was obtained from farmyard manure application (28.5%) and the lowest value was observed in combination (farmyard manure+chemical fertilizer) application (22.5%). Among the cultivars, dry matter content of Osmaniye had higher value than Masaccio. In stem elongation period farmyard manure application caused an important increase and had the highest dry matter content for both cultivars. In addition to all these results chemical fertilization of Osmaniye was characterized by higher dry matter content compared to other applications (Table 2; Figure 2). Combination application reduced dry matter content values as compared to non-application, farmyard manure and chemical fertilization.

Non-applied fertilizer, farmyard manure, and chemical fertilizer applications increased dry matter content in ear emergence period compared to combination application. Osmaniye also got the highest dry matter content in ear emergence as observed in tillering and stem elongation periods. Masaccio cultivar responded with the lowest values in farmyard manure, chemical, and combination fertilizer applications while Osmaniye had better results (except in combination application). In addition to the highest dry matter value obtained with the chemical fertilization of Osmaniye, significantly lower values were obtained from the dry matter amount in Masaccio (Table 2; Figure 2). This may be related to Masaccio cultivar has slow growth development properties (especially stays long term period in tillering growth stage) during winter time however, it shows a rapid development with the increasing air temperature in the spring period.

In the flowering growth period, dry matter content was not affected by fertilization applications and cultivars (not significant). Farmyard manure x cultivar interaction caused statistically significant changes in dry matter content for the flowering growth stage. As mentioned above Masaccio cultivar has rapid growth in springtime with the higher temperature climate conditions so the highest dry matter content was obtained from chemical fertilization of Osmaniye (44.8%) and Masaccio (44.5%) additionally the lowest value was observed in combination application for Osmaniye cultivar (35.3%) (Table 2; Figure 2).

The most important generative growth stage is grain filling which ensures stored assimilates to grain in this period. Milk development growth stage dry matter content affected by fertilization applications and chemical fertilization contributed effectively to the dry matter content of wheat plants. Dry matter accumulation after anthesis significantly increased with increasing nitrogen applications (Duan et al. 2014). While the chemical fertilization had the highest dry matter content value (54.7%), the combination of fertilizers had the lowest value (48.1%) also interestingly control (non-applied fertilization) application had higher dry matter content compared to the combined application and this may be due to only one year experiment results were evaluated for this study so it must be controlled by multiple year experiments. Masaccio cultivar had the highest dry matter content in the milk development stage compared to Osmaniye had the lowest dry matter content and this may be related to mentioned above Masaccio has a rapid growth habit in springtime with the increasing temperature.

### 3.3 Bread-making quality properties

Farmyard manure and chemical fertilization applications were found to be statistically significant ( $p < 0.01$ ) on bread-making quality properties. According to variance analysis, the cultivar factor revealed significant differences ( $p < 0.01$ ) for sedimentation value, wet and dry gluten values. On the other hand, application x cultivar interaction was found statistically significant on bread-making quality properties except for gluten index parameter (Table 3). The sedimentation value points out the swelling capacity of gluten, which depends on the quantity and as well as strength of the gluten for exceeds well the accepted value (20 ml) of good bread-making wheat (Erekul et al. 2012). Also, higher sedimentation values usually ensure a greater volume of the baked bread. In general, a sedimentation value of 10-15

ml indicates low loaf volume, a medium between 15-25 ml, and the highest loaf volume between 45-65 ml (Finnie and Atwell, 2016).

Table 3. Organic and chemical fertilization sedimentation volume results (ml)

Application/Cultivar	Osmaniye	Masaccio	Mean Application
Control	20.6 bc	20.0 bc	20.3 B
Manure	21.6 b	21.0 b	21.3 AB
Chemical	25.3 a	19.0 c	22.1 A
Combination	21.3 b	21.3 b	21.3 AB
Mean Cultivar	22.2 A	20.3 B	
Lsd Application: 1.55*; Lsd Cultivar: 0.81**; Lsd Interaction: 1.70**			

In general, obtained sedimentation values equal to medium loaf volume values in the present study. Sedimentation values of different fertilizer applications ranged between 20.3 ml (control) and 22.1 ml (chemical fertilizer). Osmaniye had a higher sedimentation value compared to Masaccio cultivar. When the interaction results are evaluated chemical fertilization caused an important increase in Osmaniye with the highest value (25.3 ml) cultivar but sedimentation value decreased in chemical fertilization of Masaccio (19.0 ml) (Table 3; Figure 2).

Wet gluten content was significantly affected by the fertilizer applications and farmyard manure+chemical fertilizer application (combination) caused a greater increase and had the highest wet gluten content (46.7%) and control and farmyard manure applications had the 33.7% and 34.4% the lowest wet gluten values, respectively. Gluten plays a key role in determining the unique baking quality of wheat and the minimum wet gluten content of wheat flour should be 24% (Kaushik et al. 2015). In the present study wet gluten contents of applications and cultivars of approximately >26% were obtained in the middle to a high level. The highest wet gluten content was measured with the combination of farmyard manure and chemical fertilizers (54.0%). Wet gluten content showed a greater decrease in the farmyard manure application of Osmaniye compared to control and other applications and Masaccio cultivar had the lowest wet gluten content (26.2%) in non-applied fertilization application (Table 4; Figure 2).

Table 4. Organic and chemical fertilization wet gluten results (%)

Application/Cultivar	Osmaniye	Masaccio	Mean Application
Control	41.1 b	26.2 c	33.7 C
Manure	27.9 c	40.9 b	34.4 C
Chemical	38.1 b	41.3 b	39.7 B
Combination	39.4 b	54.0 a	46.7 A
Mean Cultivar	36.6 B	40.6 A	
Lsd Application: 3.53**; Lsd Cultivar: 2.20**; Lsd Interaction: 4.22**			

Gluten index has been known as a better trait for wheat processing quality, rather than wet gluten content. Optimum gluten index values range between 75 and 90% and it expresses the weight percentage of wet gluten remaining on a sieve after washing with salt solution and centrifugation (Bonfil and Posner, 2012; Ereku et al. 2012). While fertilizer applications were found to be statistically significant ( $p<0.05$ ), cultivar and interaction did not influence statistically significant to gluten index. Gluten index values of fertilizer applications ranged between 86.1% (combination) and 90.4 (control) (Table 5; Figure 2).

Table 5. Organic and chemical fertilization gluten index results (%)

Application/Cultivar	Osmaniye	Masaccio	Mean Application
Control	90.5	90.3	90.4 A
Manure	90.6	89.9	90.3 A
Chemical	94.2	84.5	89.3 A
Combination	88.4	83.9	86.1 B
Mean Cultivar	90.9	87.1	
Lsd Application: 3.13*			

Gluten index was closely correlated with the gluten quality determinations and widely used method for analyzing gluten strength of bread wheat (Vida et al. 2014). Application of farmyard manure and chemical fertilizers together resulted in weak gluten strength and there was no statistically significant differences between control, farmyard manure, and chemical fertilizer applications.

Dry gluten is assumed as the weight of wet gluten dry matter. It was monitored that the rate of increase in wet gluten was lower than that of dry gluten applied in chemical fertilizer. Chemical fertilizer and combination of fertilizers had the highest dry gluten values (14.4 and 15.7%) while control and farmyard manure applications had the lowest values (11.3 and 12.7%). Among the cultivars, Masaccio had the highest dry gluten content also observed in wet gluten content. Chemical and combination of fertilizer applications increased dry gluten content and had the highest values 17.0 and 17.5%, respectively. Fertilizer applications caused any change in dry gluten content of Osmaniye while Masaccio had both the highest and lowest values. Non-application of fertilizers (control) had the lowest dry gluten value (9.8%) of Masaccio and applying fertilizers caused greater increase dry gluten content of Masaccio (Table 6; Figure 2).

Table 6. Organic and chemical fertilization dry gluten results (%)

Application/Cultivar	Osmaniye	Masaccio	Mean Application
Control	12.8 b	9.8 c	11.3 B
Manure	12.3 b	13.2 b	12.7 B
Chemical	11.9 b	17.0 a	14.4 A
Combination	13.8 b	17.5 a	15.7 A
Mean Cultivar	12.7 B	14.4 A	

Lsd Application: 1.53\*\*; Lsd Cultivar: 1.14\*\*; Lsd Interaction: 2.03\*\*

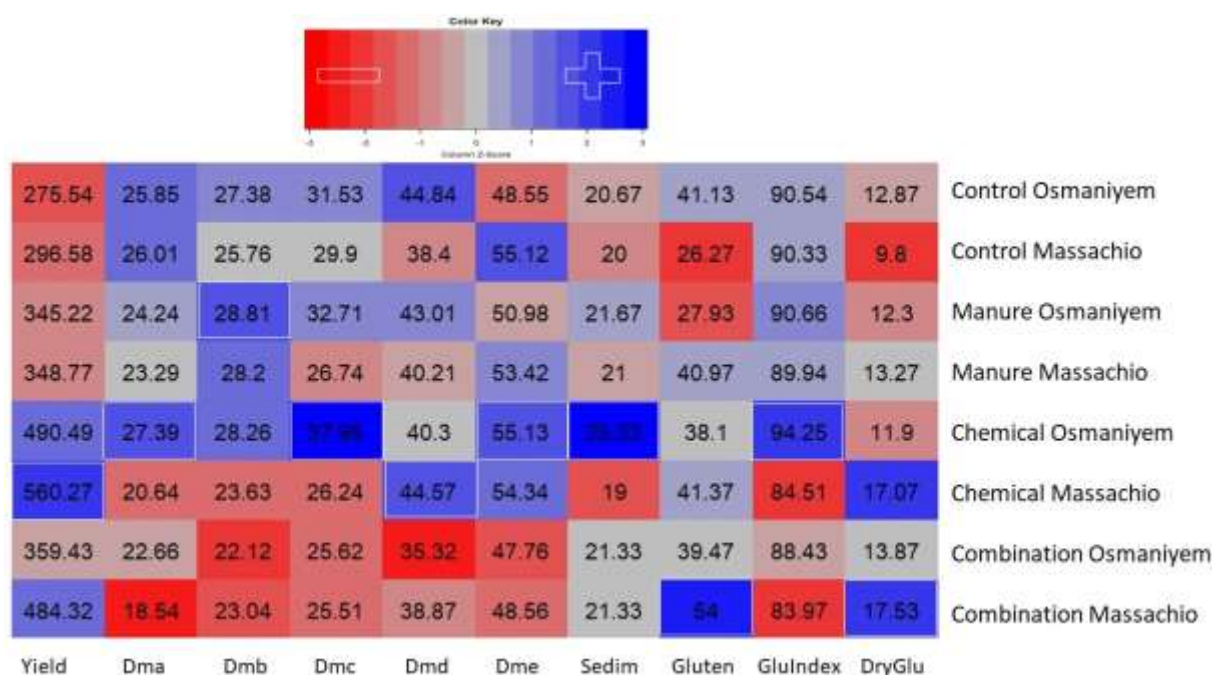


Figure 2. Mean values shown in the heat map for evaluated parameters (Yield: Grain yield (kg da<sup>-1</sup>), Dma: [Dry matter in ZGS 22, Dmb: Dry matter in ZGS 31; Dmc: Dry matter in ZGS 51, Dmd: Dry matter in ZGS 61; Dme: Dry matter in ZGS 71, Sedim: Sedimentation volume (ml), Gluten: Wet gluten content (%), GluIndex: Gluten index (%), DryGlu: Dry gluten (%)]

#### 4. CONCLUSION

It can be concluded that such results will be essential in understanding the effects of organic and chemical fertilization on bread wheat plant growth and baking quality. This preliminary study mainly aimed to reveal organic and chemical fertilization effects on yield and bread-making quality properties based on dry matter accumulation. Chemical fertilization application triggered to achieve higher dry

matter content of bread wheat resulted in higher yield values, and this is the inevitable result because of the high utilization of wheat in a short time. Due to the increase in chemical fertilizer prices, farmers prefer to use farmyard manure to get more economic gain in wheat production. Adapting farmyard manure with the combination of chemical fertilizer showed promising results in both yield and bread-making quality of Masaccio cultivar. In terms of sustainable wheat production organic fertilizers should be adapted to achieve better soil properties with multiple and long-term field experiments which also evaluate soil and plant health properties.

#### 4. REFERENCES

- Astaoui, G., Dadaiss, J. E., Sebari, I., Benmansour, S., & Mohamed, E. (2021). Mapping Wheat Dry Matter and Nitrogen Content Dynamics and Estimation of Wheat Yield Using UAV Multispectral Imagery Machine Learning and a Variety-Based Approach: Case Study of Morocco. *AgriEngineering*, 3: 29–49. Doi: <https://doi.org/10.3390/agriengineering3010003>.
- Bonfil, D. J., & Posner, E. S. (2012). Can bread wheat quality be determined by gluten index? *Journal of Cereal Science*, 56 (2): 115-118. Doi:<https://doi.org/10.1016/j.jcs.2012.07.003>.
- Borghini, B., Giordani, G., Corbellini, M., Vaccino, P., Guermanni, M., & Toderi, G. (1995). Influence of crop rotation, manure and fertilizers on bread making quality of wheat (*Triticum aestivum* L.). *European Journal of Agronomy*, 4 (1): 37-45.
- Braun, H. J., Atlin, G. & Payne, T. (2010). Multilocation testing as a tool to identify plant response to global climate change. In: Reynolds, M. (Ed.). *Climate Change and Crop Production*, CABI, London, UK.
- de Mendiburu F, de Mendiburu MF. (2019). Package ‘agricolae’. R Package, Version, 1.3. Available from: <https://cran.r-project.org/web/packages/agricolae/agricolae.pdf>.
- Duan, W., Yu, Z., Zhang, Y., Wang, D., Shi, Y., & Xu, Z. (2014). Effects Of Nitrogen Application On Biomass Accumulation, Remobilization, And Soil Water Contents In A Rainfed Wheat Field. *Turkish Journal Of Field Crops*, 19 (1), 25-34. Doi: 10.17557/tjfc.45522.
- Ereku, O., & Köhn, W. (2006), Effect of Weather and Soil Conditions on Yield Components and Bread-Making Quality of Winter Wheat (*Triticum aestivum* L.) and Winter Triticale (*Triticosecale* Wittm.) Varieties in North-East Germany. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 192: 452-464. <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2006.00234.x>.
- Ereku, O., Götz, K. P., & Gürbüz, T. (2012). Effect of Supplemental Irrigation on Yield and Bread-Making Quality of Wheat (*Triticum aestivum* L.) Varieties Under the Mediterranean Climatological Conditions. *Turkish Journal of Field Crops*, 17 (1): 78-86.
- Faostat (2022). Statistics, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Web: [<https://www.fao.org/statistics/en/>].
- Finnie, S., & Atwell, W.A. (2016). *Wheat and Flour Testing*. Wheat Flour, 2nd edition, AACC International, Inc., 2016, pp. 57–71.
- Kaushik, R., Kumar, N., Sihag, M.K., & Ray, A. (2015). Isolation, characterization of wheat gluten and its regeneration properties. *J Food Sci Technol* 52, 5930–5937. Doi: <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1690-2>.
- Kavinder, Hooda, V. S., Malik, Y. P., Devraj, Harender & Kavita (2019). Effect of Farm Yard Manure and Nitrogen Application on Growth and Productivity of Wheat under Long Term Experimental Conditions. *Current Journal of Applied Science and Technology*, 35 (4), 1–7. Doi: <https://doi.org/10.9734/cjast/2019/v35i430189>.
- Özkan, R., Bayhan, M., Yorulmaz, L., Öner, M. & Yıldırım, M. (2021). Effect of Different Organic Fertilizers on Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.) Productivity. *International Journal of Agriculture Environment and Food Sciences*, 5 (4), 433-442. Doi: 10.31015/jaefs.2021.4.1.

- Phullan, N. K., Memon, M., Shah, J. A., Memon, M. Y., Sial, T. A., Talpur, N. A., & Khushk, G. M. (2017). Effect of Organic Manure and Mineral Fertilizers on Wheat Growth and Soil Properties. *Journal of Basic & Applied Sciences*, 13, 559–565. <https://doi.org/10.6000/1927-5129.2017.13.9>.
- Ryan, J., Abdel Monem, M., Shroyer, J. P., El Bouhssini, M., & Nachit, M. M. (1998). Potential for nitrogen fertilization and Hessian fly-resistance to improve Morocco's dryland wheat yields. *European Journal of Agronomy*, 8 (3–4): 153-159. Doi: [https://doi.org/10.1016/S1161-0301\(97\)00051-8](https://doi.org/10.1016/S1161-0301(97)00051-8).
- Ryan, J., Sommer, R., & Ibrikci, H. (2012). Fertilizer Best Management Practices: A Perspective from the Dryland West Asia–North Africa Region. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 198: 57-67. <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2011.00488.x>.
- Thomason, W.E., Phillips, S.B., Pridgen, T.H., Kenner, J.C., Griffey, C.A., Beahm, B.R., & Seabourn, B.W. (2007), Managing Nitrogen and Sulfur Fertilization for Improved Bread Wheat Quality in Humid Environments. *Cereal Chemistry*, 84: 450-462. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-84-5-0450>.
- Vida, G., Szunics, L., Veisz, O., Bedő, Z., Láng, L., Árendás, T., Bónis, P., & Rakszegi, M. (2014). Effect of genotypic, meteorological and agronomic factors on the gluten index of winter durum wheat. *Euphytica*, 197: 61–71. <https://doi.org/10.1007/s10681-013-1052-6>.
- Zhang, H. Q., Yu, X. Y., Zhai, B. N., Jin, Z. Y., & Wang, Z. H. (2016). Effect of manure under deficit nitrogen application rates on winter wheat production and soil fertility in dryland. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, Volume 39, International Conference on Water Resource and Environment. 23–26 July 2016, Shanghai, China.

**BALIKESİR İLİ ŞARTLARINDA KIVIRCIK IRKI KOYUNLARDA DÖLVERİMİ VE  
BÜYÜME PERFORMANLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ**  
**THE EVALUATION OF THE REPRODUCTION AND GROWTH PERFORMANCE OF  
KIVIRCIK SHEEP BREEDS IN BALIKESIR PROVINCIAL CONDITIONS**

**Muharrem SATILMIŞ<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Dr. Öğretim Üyesi, İzmir Bakırçay Üniversitesi, Menemen Meslek Yüksekokulu, İzmir, Türkiye.

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4758-9508>

**Murat ER<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Dr. Öğretim Üyesi, İzmir Bakırçay Üniversitesi, Menemen Meslek Yüksekokulu, İzmir, Türkiye.

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6623-1539>

**ÖZET**

Bu çalışma Balıkesir İlinde yürütülen Halk Elinde Küçükbaş Hayvan Islahı Projesi kapsamında Kıvırcık Irkı Koyunlarda döl veriminin ve kuzularda büyüme performanslarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışma kapsamında Dursunbey ilçesinde 858 baş, Sındırgı ilçesinde 207 baş olmak üzere toplam 1065 baş Kıvırcık koyun ve 1178 baş kuzu araştırma materyali olarak kullanılmıştır. Çalışmada Dursunbey ve Sındırgı ilçelerinde 2022 yılı doğum sezonunda (Ocak- Nisan) doğum yapan koyunlarda çoklu doğum oranı, doğan kuzularda ise doğum ağırlığı ve 90. gün canlı ağırlık verileri incelenmiştir. Kuzularda büyümeye etki eden ırk, cinsiyet, doğum tipi ve doğum ağırlığı gibi çevresel faktörler En Küçük Kareler yöntemi ile incelenmiştir. Bir doğuma kuzu sayısı Dursunbey ilçesinde 1,09, Sındırgı ilçesinde ise 1,21 bulunmuştur. Kuzularda doğum ağırlığı, doğumu takip eden ilk 60 gün ve 60-90. günler arası günlük canlı ağırlık artışına ait en küçük kareler ortalamaları Dursunbey ve Sındırgı ilçelerinde sırasıyla 3,8 kg, 4,2 kg (P<0,001), 280 g/gün, 192 g/gün (P<0,001) ve 318 g/gün, 250 g/gün olarak tespit edilmiştir. Sonuç olarak Sındırgı ilçesinde bir doğuma elde edilen kuzu sayısının Kıvırcık ırkı koyunlarda istenen değerde (1,2) Dursunbey ilçesinde ise bu değerden düşük olduğu görülmüştür. Bununla birlikte Dursunbey ilçesi şartlarında yetiştirilen kuzularda Sındırgı ilçesine göre doğum ağırlığının düşük ancak büyüme performansının yüksek olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Büyüme performansı, döl verimi, Kıvırcık Koyunu.

\* Bu çalışma TAGEM tarafından Balıkesir ilinde yürütülen “Kıvırcık/Koyun Irkının Halk Elinde Islahı Alt Projesi (Proje Kodu:10KIV2011-01)” ile desteklenmiştir.

**ABSTRACT**

In this study, it was aimed to evaluate the fertility of the Kıvırcık Sheep and the growth performance of the lambs within the scope of the Small Cattle Breeding Project carried out in Balıkesir Province. In the current study, 1065 Kıvırcık sheep, 858 heads in Dursunbey and 207 heads in Sındırgı district, and 1178 lambs, were used as research material. Multiple birth rates in sheep that breed lambs in the 2022 birth season (January-April) in Dursunbey and Sındırgı districts, and birth weight and 90th day live weight data in born lambs were examined. Environmental factors such as race, sex, birth type and birth weight affecting growth in lambs were investigated by the Estimated Marginal Least Squares method. The number of lambs per birth was found to be 1.09 in Dursunbey district and 1.21 in Sındırgı district. The estimated marginal least squares averages of birth weight, the first 60 days after birth and the 60-90th days of daily live weight gain in lambs were 3.8 kg, 4.2 kg (P<0.001) and 280 g/day, 192 g/day (P<0.001) and 318 g/day, 250 g/day (P<0.001) in Dursunbey and Sındırgı districts, respectively. As a result, it was seen that the number of lambs obtained per birth in Sındırgı district was at the desired value (1.2) in Kıvırcık sheep and lower than this value in Dursunbey district. On the other hand, it was

determined that the birth weight was lower but the growth performance was higher in lambs reared under the conditions of Dursunbey district compared to Sındırgı district.

**Keywords:** Growth performance, fertility, Kıvrıkcık sheep

\* This study was supported by TAGEM's "Public Breeding of the Curly/Sheep Breed Sub-Project (Project Code: 10KIV2011-01)" carried out in Balıkesir.

## 1. GİRİŞ

Koyun yetiştiriciliğinde ekonomik karlılık, günümüzde yoğun olarak süt ve yün veriminden ziyade et verimine evrilmiştir. Bu hususta et veriminin artırılmasında en önemli faktörler doğan kuzu sayısının artırılması ve kuzuların büyüme performanslarının iyileştirilmesidir. Koyun yetiştiriciliğinde kuzu üretiminin artırılması için koyunların yüksek döl verimi oranlarına sahip olması ve beslenme yönetiminin uygun olarak gerçekleştirilmesi önem arz etmektedir (Ceyhan ve ark., 2003).

Tüm canlılarda olduğu gibi koyunlarda da ergin yaş ağırlığına ulaşıncaya kadar geçen sürede kazandığı canlı ağırlığındaki artışa (CAA) büyüme adı verilmektedir (Berberlioğlu, 2022). Koyunlarda büyüme veya canlı ağırlık kazanımı birçok faktörden etkilenmektedir. Hayvanın genetik orijini koyunlarda CAA artışını etkileyen önemli bir faktör olmakla birlikte, doğum tipi, hayvanın cinsiyeti, besleme yöntemi, çiftlik idaresi, iklim şartları gibi çevresel etmenler de büyümeyi son derece etkilemektedir (Keçici ve ark., 2021). Bu nedenle koyun gibi gelir hayvanlarının yetiştiriciliğinde büyümenin izlenmesi ve onu etkileyen faktörlerin kontrol edilmesi büyük önem taşımaktadır.

Marmara ve Ege Bölgeleri genellikle kaliteli kuzu üretimi başta olmak üzere yarı yoğun ve yoğun koyun yetiştiriciliğine uygun iklim, mera ve beslenme koşullarına sahiptir. (Ceyhan ve ark., 2003). Söz konusu bölgede olan Balıkesir ili 1,4 milyon küçükbaş hayvan varlığı ile toplam küçükbaş hayvan varlığı bakımından ülkemizde 7. sırayı almaktadır (Tarım ve Orman Bakanlığı, 2023).

Kıvrıkcık koyunu Marmara bölgesinin iklim şartlarına adaptasyonu sağlamakla birlikte (Yakan ve ark., 2012) et lezzetinden de dolayı (Cemal ve ark., 2005) bölgede yoğun olarak yetiştirilmektedir. Türk-Vet verilerine göre Balıkesir ilinde 449784 başla Kıvrıkcık koyun yetiştiriciliği gerçekleştirilmekte ve bu ilimizde Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından Halk Elinde Küçükbaş Hayvan Islahı Projesi ile Balıkesir ili Damızlık Koyun-Keçi Yetiştirici Birliği çatısında altında Kıvrıkcık koyun yetiştiriciliği yapan üreticilere destek vermektedir. Bununla birlikte Balıkesir ilinde söz konusu proje ile desteklenen Kıvrıkcık koyun yetiştiriciliğinin performans verilerinin incelenmesi ve sonuçların raporlanması gerekmektedir. Bu nedenle bu çalışma Balıkesir şartlarında gerçekleştirilen "Halk Elinde Küçükbaş Hayvan Islahı Projesi" kapsamında yetiştirilen koyunlarda döl veriminin, doğan kuzularda ise büyümenin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

## 2. MATERYAL VE METOD

Araştırma materyalini, Balıkesir İlinde yürütülen Halk Elinde Küçükbaş Hayvan Islahı Projesi kapsamında bulunan Kıvrıkcık koyunları ve bu koyunlardan doğan kuzular oluşturmuştur. Bu bağlamda Dursunbey ilçesinde 858 baş, Sındırgı ilçesinde 197 baş olmak üzere toplam 1055 baş 3-7 yaşlarında Kıvrıkcık koyun ve 1178 baş kuzu araştırma materyali olarak kullanılmıştır. Çalışmanın yapıldığı Balıkesir ilinin Dursunbey ve Sındırgı ilçeleri diğer ilçelere göre dağlık ve engebeli alanlar oluşmaktadır. Bu araziler genellikle olarak mera olarak kullanılmaktadır. Hayvanlar genellikle yılın büyük bir bölümünü meralarda otlatılmaktadır. Merada olduğu dönemde herhangi bir ek yemleme yapılmamıştır. Meraların uygun olmadığı kış döneminde (Aralık- Ocak) ağılda kuru ot ile beslenmiştir. Anaç koyunlarda herhangi kızgınlık toplulaştırma veya süperovulasyon programı uygulaması yapılmamış ve koç katımı eylül ve ekim aylarında gerçekleştirilmiştir. Anaç koyunlarda doğum başına elde edilen kuzu sayısı, kuzularda ise doğum ağırlığı, 60. ve 90. gün canlı ağırlıkları kaydedilmiştir.

Bu çalışmada elde edilen verilerden döl verimi özelliklerinden bir doğuma kuzu sayısı bakımından gruplar arası farklılıklar Mann whitney-u testi analiziyle incelenmiştir. Kuzularda doğum ağırlığına ve büyümeye etki eden bölge, cinsiyet, doğum tipi gibi çevresel faktörler En Küçük Kareler yöntemi ile incelenmiştir. (SPSS, 2011).



### 3. BULGULAR

Tablo 1’de Kıvırcık koyunlara ait döl verimi özellikleri belirtilmiştir. Çalışmada Dursunbey ilçesinden 858 ve Sındırgı ilçesinden 197 anaç Kıvırcık koyunun verileri incelendiğinde Sındırgı ilçesinde çoklu doğum yapan koyun oranının önemli derecede ( $P<0,01$ ) daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (%9,3 vs %19,8). Ek olarak bir doğuma kuzu sayısının Sındırgı ilçesinde, Dursunbey ilçesine göre daha yüksek olduğu ( $P<0,01$ ) tespit edilmiştir (sırasıyla 1,21 ve 1,09)

**Tablo1:** Koyunların döl verimi özellikleri

Özellikler	Dursunbey		Sındırgı		P değeri
	n	%	n	%	
Toplam koyun	858		197		
Tek doğuran koyun	779	9,7	158	80,2	**
Çoklu doğuran koyun	79	9,3	39	19,8	**
Bir doğuma kuzu sayısı		1,09		1,21	**

\*\*=  $P<0,01$

Çalışmada ilçelerin, doğum tipinin ve cinsiyetin kuzularda doğum ağırlığı ve büyüme performanslarına etkisi Tablo 2’de sunulmuştur. Sındırgı ilçesinde doğan kuzularda doğum ağırlığının Dursunbey ilçesinde doğan kuzulara göre önemli derecede ( $P<0,001$ ) yüksek (+453 g) olduğu tespit edilmiştir Bununla birlikte Dursunbey ilçesindeki kuzularda günlük canlı ağırlık artışının (GCAA) doğumu takip eden ilk 60 gün +88 g/gün, 60-90. günler arasında ise +67,7 g/gün ile istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek olduğu belirlenmiştir ( $P<0,001$ ).

Tek doğan kuzularda doğum ağırlığının çoklu doğan kuzulara göre yüksek olduğu gözlemlenmiştir ( $P<0,001$ ). Ek olarak tek doğan kuzularda doğumu takip eden ilk 60 gün GCAA çoklu doğan kuzulara göre + 32 g/gün daha yüksek ( $P<0,05$ ) olduğu 60. günden sonra ise gruplar arasında GCAA açısından istatistiksel bir fark oluşmadığı tespit edilmiştir.

Çalışmada cinsiyetin doğum ağırlığına ve ilk 60 günlük GCAA etkileri önemsiz bulunurken ( $P>0,05$ ), erkek kuzularda dişilere göre 60-90. günler arası GCAA +33,4 g/gün daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ).

**Tablo 2.** Kuzularda doğum ağırlığı ve büyüme performanslarının en küçük kareler ortalaması

Özellikler	n	Doğum ağırlığı, g	İlk 60 günün GCAA,	60-90. günler arası
		$\bar{x}\pm S\bar{x}$	g/gün $\bar{x}\pm S\bar{x}$	GCAA, g/gün $\bar{x}\pm S\bar{x}$
<b>İlçe</b>				
Dursunbey	938	3841,7±26,2	280,3±5,2	318,1±6,8
Sındırgı	240	4294,5±51,9	192,0±10,3	250,4±13,4
P değeri		***	***	***
<b>Doğum tipi</b>				
Tek	937	4031,1±26,2	268,9±5,3	301,7±6,8
Çoklu	241	3556,1±51,7	236,8±10,5	314,5±13,5
P değeri		***	*	ÖD
<b>Cinsiyet</b>				
Erkek	592	3922,2±33,9	267,5±6,7	320,9±6,6
Dişi	586	3945,8±34,0	257,1±6,7	287,5±8,6
P değeri		ÖD	ÖD	*

GCAA= Günlük canlı ağırlık artışı

ÖD= Önemli değil; \*=  $P<0,05$ ; \*\*\*= $P<0,001$

#### 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmada Sındırgı ilçesinde yetiştirilen Kıvırcık koyunlarda Dursunbey ilçesinde yetiştiriciliği yapılan Kıvırcık koyunlara göre bir doğuma elde edilen kuzu sayısı daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Bununla birlikte Dursunbey ilçesinden elde edilen verilerin (1,09) Kıvırcık koyunları için istenen doğum başına kuzu sayı ortalamalarından (1,2) düşük olduğu belirlenmiştir. Sındırgı ilçesindeki doğum başına kuzu sayısı oranları (1,21), Kıvırcık koyunları için farklı araştırmacılar tarafından (Özcan ve ark., 2001; Yılmaz ve ark., 2003) bildirilen değerler (1,17-1,20) ile desteklenirken, Koyuncu ve Akgün (2018) tarafından bildirilen değere (1,29) göre düşük olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmada Sındırgı ilçesi şartlarında yetiştirilen kuzuların doğum ağırlığının, Dursunbey ilçesinde yetiştirilen kuzularda ise GCAA'nın önemli derecede ( $P<0,001$ ) daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma Balıkesir şartlarında Dursunbey ve Sındırgı ilçelerinde yetiştirilen kuzuların büyüme performansının değerlendirilmesi ve karşılaştırılması açısından yapılan ilk araştırma özelliği taşımaktadır. Bununla birlikte bu bölgelerden elde edilen Kıvırcık kuzuların doğum ağırlığı ortalamaları (4068 g), Yılmaz (2017) Marmara bölgesi şartlarında Kıvırcık kuzularda elde ettiği doğum ağırlığı ortalamalarından (3910 g) daha yüksek Yakan ve ark., (2012) Ankara şartlarında Kıvırcık kuzularda belirlediği doğum ağırlığı ortalamalarından (4340 g) daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

Yaptığımız çalışmada ilgi çeken diğer bir nokta da Kıvırcık koyunlarda Sındırgı ilçesinde döl veriminin ve kuzularda doğum ağırlığının yüksek iken büyüme performansının Dursunbey ilçesinde önemli derecede daha yüksek olmasıdır. Her iki ilçede "Halk Elinde Islah Projesi" kapsamında yetiştirilen kuzuların genotipik özelliklerinin benzer olduğu düşünüldüğünde söz konusu parametrelere çevresel faktörlerin özellikle de beslenme yönetiminin ve mera kalitesi etkisinin incelenmesi gerektiği düşünülmektedir. Bilindiği üzere fötüs doğum ağırlığının yarısından fazlasını gebeliğin son 2 aylık döneminde kazanmaktadır ve bu dönemde beslenme kuzuların sağlığı ve yaşama gücü için önemli bir etkidir (Rooke ve ark., 2015). Ek olarak, Koyuncu ve Duymaz (2017) koyunların beslenmesinin doğum ağırlığını doğrudan etkilediğini bildirmiştir.

Çalışmada tek doğan kuzularda doğum ağırlığının ve ilk 60 günlük GCAA'nın çoklu doğan kuzulardan yüksek olduğu belirlenmiştir. Benzer sonuçlar birçok çalışmada da gözlemlenmiştir. Yakan ve ark. (2012) Ankara şartlarında tek doğan Kıvırcık kuzularının çoklu doğum yapanlara göre önemli derecede daha yüksek (+1,07 g) olduğunu bildirmiştir. Ek olarak Alarслан ve Aygün (2019) yılında yaptığı çalışmada Yalova bölgesinde yetiştirilen tek doğan Kıvırcık kuzularda doğum ağırlığının ve süttten kesime kadar GCAA'nın önemli derecede yüksek olduğunu belirtmiştir.

Yaptığımız çalışmada kuzularda cinsiyetin doğum ağırlığına ve doğumu takip eden ilk 60 gün GCAA'na etkisi önemsiz bulunurken, 60-90. Günler arası günlük GCAA'nın erkek kuzularda daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde Yalova şartlarında yapılan bir çalışmada (Alarслан ve Ergün, 2019) kıvırcık kuzularda doğum ağırlığına ve süttten kesime kadar dönemde GCAA'na cinsiyetin etkisi olmazken, 120. gün canlı ağırlıkları erkek kuzularda daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte Kaymakçı ve ark. (2006) ve Sarı ve ark. (2014) 120. gün canlı ağırlığa cinsiyetin etkisinin olmadığını bildirmiştir.

Sonuç olarak bu çalışmadan elde edilen veriler ışığında herhangi bir kızgınlık toplulaştırma yada süperovulasyon yapılmayan bu iki bölgede gerçekleştirilen Kıvırcık koyun yetiştiriciliği performansına bakılarak Sındırgı ilçesinde koyunların döl veriminin ve doğum ağırlığının, Dursunbey ilçesinde ise kuzuların büyüme performanslarının yüksek olduğu tespit edilmiştir. Söz konusu verilerdeki farklılığın bölgeler arasında mera kalitesi farklılığına bağlı olduğu kanaatine varılmıştır. Bu nedenle bu iki ilçe de mera kalitelerinin inceleyecek ve yetiştiricilerin uyguladığı beslenme programlarının belirleyecek çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

#### 5. KAYNAKÇA

Alarслан, E., & Aygün, T. (2019). Determination of growth and some morphological Traits of Kıvırcık lambs in Yalova. *J. Anim. Prod.*, 60(1), 39-50.

Berberoğlu, E. (2022). Balıkesir koşullarında yetiştirilen pırlak kuzuların canlı ağırlık ve vücut ölçülerini etkileyen çevresel faktörlerin belirlenmesi (Yüksek lisans tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü).

- Cemal, İ., Karaca, O., Altın, T., & Kaymakçı, M. (2005). Live weights of Kıvırcık ewes and lambs in some periods under extensive management conditions. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 29(6), 1329-1335.
- Ceyhan A., Torun O., Erdoğan, İ. (2003). İmroz, Kıvırcık ve Merinos yerli koyun ırklarında canlı ağırlık ve yapağı özellikleri. *Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18(4): 101-108
- Kaymakçı, M., Koşum, N., Taşkın, T., & Akbaş, Y. (2006). Menemen koyunlarında kimi verim özelliklerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 43(1), 63-74.
- Keçici, P. D., Öztürk, N., Coşkun, R., & Ekiz, B. (2021). Effects of certain environmental factors on growth performances of Kıvırcık lambs.
- Koyuncu, M., & Duymaz, Y. (2017). Kuzularda yaşama gücünün iyileştirilmesi. *Hayvansal üretim*, 58(1), 46-56.
- Koyuncu, M., & Akgün, H. (2018). Ekstansif yetiştirme koşullarındaki Kıvırcık koyunlarında bazı döl verimi özellikleri. *Hayvansal Üretim*, 59(1), 33-40.
- Özcan, M., Altinel, A., Yılmaz, A., & Güneş, H. (2001). Studies on the possibility of improving lamb production by two-way and three-way crossbreeding with German Black-Headed Mutton, Kıvırcık and Chios sheep breeds 1. fertility, lamb survival and growth of lambs. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 25(5), 687-694.
- Rooke, J. A., Arnott, G., Dwyer, C. M., & Rutherford, K. M. D. (2015). The importance of the gestation period for welfare of lambs: maternal stressors and lamb vigour and wellbeing. *The Journal of Agricultural Science*, 153(3), 497-519.
- Sarı, M., Kadir, Ö. N. K., AKSOY, A. R., TİLKİ, M., & IŞIK, S. A. (2014). Hemşin Kuzularında büyüme ve bazı vücut ölçülerinin belirlenmesi. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 54(1), 15-20.
- SPSS IBM. (2011). IBM SPSS statistics for Windows, version 20.0. New York: IBM Corp, 440, 394.
- Tarım ve Orman Bakanlığı. (2023). Balıkesir İl Tarım ve Orman Müdürlüğü Faaliyet Raporu. <https://balikesir.tarimorman.gov.tr/Menu/55/Faaliyet-Raporu> Son erişim tarihi: 24.02.2023.
- Yakan, A., Ünal, N. ve Dalcı, M. T. (2012). Ankara Şartlarında Akkaraman, İvesi ve Kıvırcık Irklarında Döl Verimi, Büyüme ve Yaşama Gücü. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 52(1), 1-10.
- Yılmaz, A., Ozcan, M., Ekiz, B., Ceyhan, A., & Altine, A. (2004). The production characteristics of the indigenous Imroz and Kıvırcık sheep breeds in Turkey. *Animal Genetic Resources/Resources génétiques animales/Recursos genéticos animales*, 34, 57-66.
- Yılmaz, M. (2017). Bazı Koyun Irk Ve Tiplerinin Kuzu Üretim Etkinliğinin Belirlenmesi (Yüksek lisans tezi, Namık Kemal Üniversitesi).

**GIDA PATOJENLERİNDE ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ  
ANTIMICROBIAL RESISTANCE IN FOOD PATHOGENS**

**Gönül Damla ALTUNTAŞ<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Araştırma Görevlisi, Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Güvenliği ve Halk Sağlığı Bölümü, Kars, Türkiye.

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7310-6901>

**Nebahat BİLGE<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>Profesör Doktor, Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Güvenliği ve Halk Sağlığı Bölümü, Kars, Türkiye.

<sup>2</sup>ORCID ID: [https://orcid.org/0000\\_0002\\_5229\\_9847](https://orcid.org/0000_0002_5229_9847)

**ÖZET**

Antibiyotiklere dirençli bakteriler ve yol açtıkları enfeksiyonlar gün geçtikçe artış göstermektedir. Bu durum küresel bir tehdit oluşturan oldukça önemli bir halk sağlığı sorunudur. Yılda yaklaşık 700 000 kişinin bu etkenlerden kaynaklanan hastalıklar nedeniyle yaşamını yitirdiği bildirilmekte ve bu sayının 2050'ye kadar 10 milyonu aşacağı öngörülmektedir. Bakteriler farklı mekanizmalar üzerinden antimikrobiyellere karşı direnç geliştirmekte ve bu süreç dinamik olarak ilerlemektedir. Gerek insan gerekse veteriner hekimliğinde uygun olmayan biçimde antibiyotik kullanılması, süreci hızlandıran bir faktör olarak rol oynamaktadır. Dünya çapında antibiyotik tüketiminin yılda 100 000 – 200 000 ton arasında olduğu tahmin edilmektedir. Bunun yaklaşık %50'sini ise veteriner ilaçları ve büyümeyi destekleyici maddeler oluşturmaktadır. Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü 2015 Yılı Mart Ayı verilerinde, ruhsatlı toplam 1992 adet veteriner ilacının 905 adedinin antibakteriyel ilaç niteliğinde olduğu belirtilmiştir. Antibiyotiklerin hayvansal gıda üretim sistemlerinde yaygınlaşması da besin zinciri üzerinden insanlara bulaşabilen, antimikrobiyellere dirençli zoonotik bakterilerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Amerikan Hastalık Kontrol Merkezi (CDC), problemin ciddiyeti konusunda uyarıda bulunmak ve konu hakkında farkındalık yaratmak amacıyla, global anlamda tehdit oluşturan antibiyotik dirençli bakterileri belirlemiş ve gıdalarda rastlanma sıklığı, oluşturduğu hastalığın şiddeti ve direnç oluşturma potansiyeli bakımından öne çıkan gıda kaynaklı patojen bakteriler kapsamında özellikle *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogenes*'e vurgu yapmıştır. Söz konusu mikroorganizmaların aracılık ettiği enfeksiyonların tedavilerinde başarı oranının günden güne düşüyor olması endişe vericidir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Eski Başkanı Dr. Gro Harlem Brundtland, insanlığın “Antibiyotik Öncesi Çağa Dönüş” riski altında olduğunu ve tüm mevcut mali ve bilimsel kaynakların bu tehlikenin önlenmesine harcanması gerektiğini ifade etmiştir. WHO'nun 2001 yılında yayınlanan “Antimikrobiyel Direncin Kontrol Altına Alınması” konulu raporunda sorunun bireysel değil toplumsal, ülkesel değil küresel olduğu ve ancak ülkelerin ortak çalışmalarıyla kontrol altına alınabileceğini belirtilmiştir. Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü (OIE) tarafından daha önceden 18 Kasım olarak ifade edilen “Antibiyotik Farkındalık Günü” 16 - 22 Kasım tarihlerini içine alacak şekilde bir haftaya yayılmış, böylece içinde bulunulan probleme daha fazla ışık tutulması hedeflenmiştir. Ülkemizde ise bu kapsamda “Zoonozlar ve Zoonotik Etkenler, İlgili Antimikrobiyel Direnç ve Gıda Kaynaklı Salgınların İzlenmesi Yönetmeliği” hazırlanmış, ayrıca Ulusal Antimikrobiyel Direnç Sürveyans Sistemi (UAMDSS) başlatılmıştır. Yürütülen bu faaliyetlerin sorunun çözümüne hangi ölçüde yarar sağlayacağını zaman gösterecektir. Dolayısıyla antibiyotiklere alternatif tedavi yaklaşımları üzerine çalışmaların yapılması da son derece önemlidir.

**Anahtar Kelimeler:** Antimikrobiyal direnç, patojen mikroorganizma, gıda, halk sağlığı.

**ABSTRACT**

Antibiotic-resistant bacteria and the infections they cause are increasing day by day. This is a very important public health problem that poses a global threat. It is reported that approximately 700 000 people die annually due to diseases caused by these agents, and this number is predicted to exceed 10 million by 2050. What really scares us is the thought that the number of deaths will exceed 10 million by 2050. Bacteria develop resistance to antimicrobials through different mechanisms and this process progresses dynamically. Inappropriate use of antibiotics in both human and veterinary medicine plays a role as a factor that accelerates the process. The worldwide consumption of antibiotics is estimated to be between 100 000 – 200 000 tons per year. Approximately 50% of this is veterinary drugs and growth promoting substances. In the March 2015 data of the General Directorate of Food and Control, it is stated that 905 out of 1992 licensed veterinary drugs are antibacterial drugs. The prevalence of antibiotics in animal food production systems also causes the emergence of antimicrobial-resistant zoonotic bacteria that can be transmitted to humans through the food chain. The World Health Organization (WHO) and the American Center for Disease Control (CDC), in order to warn of the seriousness of the problem and to raise awareness about the issue and especially emphasized *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* within the scope of foodborne pathogenic bacteria that stand out in terms of frequency of occurrence in foods, the severity of the disease they cause and the potential to create resistance. It is worrying that the success rate in the treatment of infections mediated by these microorganisms is decreasing day by day. Former World Health Organization (WHO) President Dr. Gro Harlem Brundtland stated that humanity is at risk of a "Return to the Pre-Antibiotic Era" and that all available financial and scientific resources should be spent on preventing this danger. In the WHO's report on "Controlling Antimicrobial Resistance" published in 2001, it was stated that the problem is not individual but social, not national but global, and that it can only be brought under control with the joint efforts of countries. The "Antibiotic Awareness Day", previously stated as November 18 by the World Organization for Animal Health (OIE), was spread over a week, including November 16 - 22, thus aiming to shed more light on the current problem. In our country, in this context, "Regulation for Monitoring Zoonoses and Zoonotic Factors, Relevant Antimicrobial Resistance and Foodborne Outbreaks" has been prepared, and the National Antimicrobial Resistance Surveillance System (UAMDSS) has been initiated. Time will tell to what extent these activities will contribute to the solution of the problem. Therefore, it is extremely important to conduct studies on alternative treatment approaches to antibiotics.

**Keywords:** Antimicrobial resistance, pathogenic microorganism, food, public health.

**1. GİRİŞ**

Antibiyotikler, aktinomiset, bakteri ve mantar gibi mikroorganizmalar tarafından sentezlenen veya sentetik olarak hazırlanan, oldukça düşük konsantrasyonlarda dahi bakteri gelişimini önleyen/yavaşlatan/durduran (bakteriyostatik; tetrasiklinler, makrolidler, fenikoller, sülfonamidler, kinolonlar gibi) ya da öldüren (bakterisid; beta-laktamlar, nitrofuranlar, aminoglikozidler, polimiksinler, novobiosin gibi) maddelerdir. En yaygın sınıflandırma moleküler yapı, etki mekanizması ve etki spektrumu üzerinden yapılmaktadır. Aynı sınıfta yer alan antibiyotikler genellikle benzer kalıpta bir etkinlik, toksisite ve potansiyel alerjik yan etki gösterir (Etebu ve Ariekpar 2016).

Antibiyotikler mikroorganizmalar üzerindeki etkilerini; 1) hücre duvarı sentezini engelleyerek, 2) sitoplazmik zarın geçirgenliğini değiştirerek, 3) nükleik asit sentezini önleyerek, 4) ara metabolizmayı bozarak veya protein sentezini engelleyerek gösterir (Şanlı ve Kaya 1994).

Antibiyotiklerin etki spektrumunda yer alan mikroorganizmaların ilaçtan etkilenmemesi, direnç gelişiminin bir göstergesi olabilir. Kemoterapötik ajanlar tedavide kullanımları sırasında belirli doz aralıklarında etki gösterirler ve bu şekilde istenilen serum konsantrasyonlarına ulaşırlar. Bu nedenle klinik açıdan antimikrobiyallere direnç olgusu, patojen mikroorganizmanın kemoterapötik ilacın doz aralığındaki serum konsantrasyonlarından etkilenmemesi olarak tanımlanır (Coculescu 2009, Martinez 2014).

Bir mikroorganizma doğalında böyle bir özelliğe sahip olabilir ya da sonradan bu niteliği kazanabilir. Rezistans özelliği, bakteri kromozomunda mutasyon meydana gelmesi sonucunda veya direnç gen paketinin ortamdan ya da diğer bakterilerden transdüksiyon, transformasyon veya konjugasyon yoluyla alınmasına (R plazmidleri veya transpozonlar aracılığıyla şekillenen direnç) bağlı olarak kazanılabilir (Reygaert 2018).

Kromozomal mutasyon yoluyla kazanılmış dirençte, bakteri kromozomundaki mutasyonlar, bakterinin antibiyotik ile temasına bağlı olarak şekillenmez, arada neden sonuç ilişkisi yoktur ve mutasyon tek veya birden fazla aşamada tamamıyla spontan olarak şekillenir. Aktarılabilir direnç, R plazmidleri ve transpozonlar aracılığı ile şekillenir. Sirküler yapıda çift zincirli DNA molekülleri olan plazmidler, hücrenin ekstrakromozomal genetik elemanlarıdır. Bakterilere direnç özelliği veren genleri taşıyan plazmidler, R plazmidleri (direnç plazmidleri) olarak isimlendirilirler. Transpozon ise direncin taşınmasında rol oynayan özel bir DNA parçasıdır. Küçük ve hareketli olan bu parçacıklar hem kromozomal DNA hem de plazmidler üzerine sokulabilir. Transpozonlar, bir plazmidten diğerine ya da plazmidten kromozoma kolayca atlayabildikleri için, bakteri popülasyonlarında direnç materyalinin hızla yayılmasını sağlarlar. Bir hücreye başka bir hücreden ya da ortamdan plazmid transferi, transdüksiyon, konjugasyon veya transformasyon yoluyla gerçekleşir. Bir ilaca dirençli bir bakteri, benzer etki veya forma sahip başka bir ilaca da rezistans gösterebilir ki bu durum çapraz direnç olarak isimlendirilir. Her antibiyotiğe karşı zaman içinde direnç gelişebilir, bu durum ilacın minimum inhibitör/bakterisid konsantrasyonlarının devamlı yükselmesi ile anlaşılabilir (Coculescu 2009, Martinez 2014, Sandiumenge ve ark. 2006, Cox ve Wright 2013, Fajardo ve ark. 2008, Davies ve Davies 2010).

Bakterinin kromozomlarında ve özellikle plazmidlerinde birden fazla türde direnç geninin bulunmasıyla kendini gösteren çoklu ilaç direnci tıbbi literatürde "multi-drug resistance (MDR)", "pan-drug resistance (PDR)", "extreme-drug resistance (XDR)" ve "extensive-drug resistance (XDR)" gibi farklı ifadelerle karşımıza çıkmaktadır. Bugünkü tanımlamalara göre MDR terimi mevcut antimikrobialler içinde üçten fazla antibiyotiğe karşı gösterilen direnci, XDR bir ya da iki tanesi dışında var olan tüm antibiyotiklere karşı olan direnci, PDR ise mevcut tüm antibiyotiklere karşı sergilenen direnci ifade etmektedir (Tünay ve ark. 2012).

## 2. DİRENÇ GELİŞİMİNİ HIZLANDIRAN FAKTÖRLER

Mikroorganizmaların binlerce yıllık evrim süreçleri içerisinde, antimikrobiyal ilaçlar da dahil olmak üzere kendilerini zor duruma sokan tüm olumsuz kimyasal ve çevresel etmene karşı mücadele stratejisi geliştirdiği bilinmektedir. Karmaşık bir moleküler mekanizma üzerinden yürüyen bu direnç özelliği horizontal olarak da aktarılabilir. Bu durum günümüzde "direnç havuzu" olarak da isimlendirilen, "bir ekosistemde yer alan patojen veya nonpatojen farklı tür mikroorganizmaların sahip olduğu direnç faktörlerinin toplamı" şeklinde tanımlanan "rezistom" kavramı ile açıklanmaktadır. Klinik anlamda antibiyotiklerin kullanılmaya başlanmalarından çok uzun zaman önce de doğada antimikrobiallerin var olduğu, dolayısıyla bakterilerin birlikte aynı çevreyi paylaştıkları diğer mikroorganizmaların etkinliğini sınırlayıp onlarla rekabet ederek yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilmek adına rezistans sistemi geliştirdiği düşünülmektedir. Dört milyon yıldan uzun bir geçmişe sahip, izole ve olağanüstü bir ekosistem barındıran Lechuguilla Mağarası'nda, 489 metre gibi ulaşılması güç bir derinlikten izole edilen bakterilerin bile, günümüzde klinik tedavide sıkça kullanılan ilaçlara karşı dirençli olduğunun ortaya çıkarılması buna çarpıcı bir örnektir (Bhullar ve ark. 2012, Perry ve ark. 2014). Bunun gibi keşifler sayesinde bilim insanları ve sağlık alanında hizmet veren uzmanlar, tedavi amaçlı antimikrobiyal ilaçların sahaya çıkmalarından çok önce dahi antibiyotiklere dirençli bakterilerin geniş çapta yaygınlaşabilme potansiyelleri olduğunun ve bunun yaratabileceği problemlerin farkına varmışlardır. Peki direnç olgusu neden kaçınılmaz biçimde gerçekleşmektedir ve kökeninde neler yatmaktadır? Antibiyotik direnci mademki tarihin erken dönemlerinden bu yana süregelmektedir, neden bugün tüm dünyayı alarm durumuna getiren bir konu olarak gündemdeki yerini almaktadır? Derinlemesine yapılacak moleküler çalışmalar, bugün cevap bulamamış pek çok soruyu ileride aydınlatacak gibi görünmektedir ancak net bir şekilde anlaşılmaktadır ki antibiyotiklerin yaygın kullanımı, patojen bakterilerin çevresel rezistom içindeki yüksek etkili direnç genlerinin harekete geçmesi için gerekli koşulların sağlanmasına zemin hazırlamaktadır (Wright 2007). Diğer bir deyişle geçtiğimiz altmış yıl içerisinde gerek veteriner gerekse insan hekimliğinde antimikrobiallerin sık ve

çoğu zaman hatalı kullanılmış olması, mikrobiyal evrim tarihinde benzeri görülmemiş bir seleksiyona sebep olmuş, bunun bir sonucu olarak da insanlık, bir dönem etkili biçimde yararlanılabilen antibiyotiklere karşı önemli düzeyde direnç gösteren enfeksiyöz bakterilerle yüzleşmek durumunda kalmıştır. Bu durum şimdiye kadarki en ciddi halk sağlığı sorunlarından biri olarak kabul edilmektedir (White ve ark. 2002, Elbashir ve ark 2018).

Antibiyotiklerin asıl amaçlarının dışında kullanılması 1945'e uzanan bir geçmişe sahiptir. II. Dünya Savaşı'ndan sonraki yıllarda, hayvansal protein ihtiyacının karşılanması ve gıda güvenliğinin sağlanmasının (açlığın önlenmesi) teorik olarak antimikrobiyal direnç gelişme olasılığında daha önemli, gerçek bir tehdit olarak algılandığı dönemde ABD, hayvanlarda büyümeyi destekleyici ajan olarak düşük dozda antibiyotik kullanmaya başlamıştır. Sonuçların oldukça etkileyici olması nedeniyle, hayvan yemlerinde yüksek miktarda antibiyotik kullanımı (200 g/ton yem) hızla tüm dünyada kabul görmüştür (Jukes 1973). Antibiyotikler bugün hala pek çok ülkede, gıda üretimine yönelik olarak yetiştirilen hayvanlarda, tedavinin yanı sıra gelişimi desteklemek ya da genç hayvanların süttten kesilme gibi özel dönemlerinde hastalıktan korumalarını sağlamak amacıyla kullanılmaktadır. Bu tarz uygulamalarda uzun süreler düşük dozda antibiyotik kullanımı ile büyümeyi desteklemek, yemden yararlanmayı artırmak ya da hastalıklara karşı hayvanları korumak hedeflenmektedir. (<https://www.gao.gov/products/GAO-11-801> Erişim Tarihi: 22 Şubat 2021). Hayvan yetiştiricilerinin bu yola başvurmalarında, dünya nüfusunun ve bununla doğrudan bağlantılı olarak hayvansal protein ihtiyacının artması oldukça önemli bir faktördür. Bu gereksinim, çok sayıda hayvanın kapalı ortamda yoğun olarak beslendiği entansif besicilik sisteminin yolunu açmıştır. Bu endüstriyel besicilik modelinde her ne kadar iş gücü, beslenme ve barınmanın maliyeti düşük olsa da bu yoğun üretimden kaynaklanan stres artışı ve sağlıksız koşullar enfeksiyöz hastalıkların yayılmasında hayvanları daha duyarlı bir konuma getirmektedir. Bu nedenle üretici sürünün tamamına antibiyotikleri yaygın olarak uygulayabildiği gibi yem ve su aracılığı ile de bu işlemi gerçekleştirebilmektedir. Fakat bu yöntem hayvanların bireysel ilaçlanmasında aldığı dozun çok daha üzerinde ilaca maruz kalmasına ve ilaçlamanın kontrolsüzce gerçekleşmesine neden olmakta ve bu sayede antibiyotik direnci sorununa kapı açmaktadır

([https://cspinet.org/sites/default/files/attachment/outbreaks\\_antibiotic\\_resistance\\_in\\_foodborne\\_pathogens\\_2013.pdf](https://cspinet.org/sites/default/files/attachment/outbreaks_antibiotic_resistance_in_foodborne_pathogens_2013.pdf) Erişim Tarihi: 22 Şubat 2021). Bununla birlikte organik hayvancılıkta antibiyotik kullanımı kısıtlandığından, bu yöntemle yetiştirilen hayvanlardan elde edilen gıdalarda antibiyotik direnç sorununa ilişkin bulgulara daha az rastlanmaktadır. Ancak yine de organik tarım uygulanan bazı çiftliklerde dirençli mikroorganizmalar ile karşılaşılabilir. Çevrenin kontamine olması, kesim ve satış aşamalarında çapraz kontaminasyon şekillenmesi veya kanatlı işletmelerinde sürüye dışarıdan civciv katılması gibi etmenlerin bu duruma yol açabileceği düşünülmektedir (Dierikx ve ark 2013, İplikçioğlu Çil ve ark. 2020).

### 3. GIDA KAYNAKLI PATOJENLERDE ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ

İnsanların antibiyotiklere dirençli bakteriler ve direnç genlerine maruz kalmasında kontamine çevrenin yanı sıra rezistans bakteriyi bünyesinde taşıyan insanlar ve hayvanların rolü önemlidir (Bradford 2001). Ancak asıl sorunu başta tavuk eti olmak üzere dirençli bakteri ile kontamine olmuş hayvansal gıdalar ve suyun tüketilmesi oluşturmaktadır (Campos 2014, EFSA 2011). İnsanlarda görülen enfeksiyöz hastalıkların %75'inden fazlasının zoonotik ajanlardan kaynaklanması nedeniyle gıda üretimi amacıyla yetiştirilen hayvanlarda (sığır, koyun, domuz, kanatlılar vs.) antimikrobiyallerin hatalı ya da aşırı kullanımı, gıda tüketimi yoluyla antimikrobiyal direnç probleminin ortaya çıkışında ve naklinde özel bir öneme sahiptir (Behraves ve ark 2012).

Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO) göre her yıl yaklaşık 600 milyon kişi gıda kaynaklı hastalıklara yakalanmakta ve bunlardan ortalama 420 000'i hayatını kaybetmektedir (<https://www.who.int/activities/estimating-the-burden-of-foodborne-diseases>, <https://wwwn.cdc.gov/foodnetfast/>, <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/food-safety> Erişim Tarihi: 24 Ağustos 2020). Yapılan istatistiksel analizler bu olgularda özellikle *Campylobacter* (%19,47), *Salmonella* (%17,12), *E. coli* O157:H7 (%6,26), *Shigella* (%4,83), *Cryptosporidium* (%3,71), *Cyclospora* (%1,51), *Yersinia* (%1,36), *Vibrio* (%0,93) ve *Listeria* (%0,27)'nin dikkat çekici bir rol üstlendiğine işaret etmektedir (<https://wwwn.cdc.gov/foodnetfast/> Erişim Tarihi: 19 Ağustos 2020). Söz

konusu patojenlerin klinikte kullanımında olan antibiyotiklere karşı direnç geliştirmelerinin oldukça tehlikeli sonuçlar yaratma potansiyeline sahip olduğu görülmektedir.

Bu derlemede, rastlanma sıklığı, oluşturduğu hastalığın şiddeti ve direnç oluşturma potansiyeli bakımından öne çıkan gıda kaynaklı patojen bakterilerin antibiyotiklere verdikleri yanıt bakımından güncel durumları özetlenmiştir.

### 3.1. *Campylobacter* spp.

*Campylobacter* ilk kez 1970'lerde önemli, fekal, patojen bir bakteri olarak kabul edilmiştir. Kültür yöntemlerinin geliştirilmesi sayesinde ishale seyreden hastalıklar arasında ilk sıralarda yer aldığı anlaşılmıştır. Bugün tüm dünyada, akut bakteriyel gastroenterit vakalarının en önde gelen sebeplerinden biri olarak görülmektedir (Mead ve ark. 1999).

İnsanlarda meydana gelen *Campylobacter* enfeksiyonlarının %95'inden fazlasına, klinik olarak birbirine benzeyen *C. jejuni* ve *C. coli* türleri neden olmaktadır (Nachamkin ve ark. 2008). Bu iki türün en önemli kaynağı olarak kümes hayvanları ve bunlardan elde edilen ürünler gösterilmektedir (Nulty ve ark. 2016). Yapılan araştırmalar perakende olarak satılan tavuk etlerinde kontaminasyon oranının %100'e yaklaştığına işaret etmektedir (Willis ve Murray 1997). Az pişmiş ya da yanlış işlenmiş kümes hayvanları ve ürünlerinin tüketilmesiyle insanlarda hastalık oluştuğu düşünülmektedir. Bunun yanında kontamine süt ve suyun da bulaşmada etkili olduğu bildirilmektedir (Nachamkin ve ark. 2008).

*Campylobacter* enfeksiyonunun komplike olmayan vakaları için en çok tercih edilen ilaç eritromisindir. Ayrıca florokinolonlar da Gram-negatif bakteriyel enfeksiyonların ampirik tedavisi için tercih edildiğinden *Campylobacter* enfeksiyonunun tedavisinde de sıklıkla başvurulmuş bir ilaç grubudur (White ve ark. 2002). Ancak yaygın ve tehlikeli bir hastalık seyrine sahip olan *Campylobacteriosis* olgularının son yıllarda antibiyotik tedavisine yeteri düzeyde cevap vermiyor olması, etkenin gerek hayvan gerekse insan hekimliği açısından önemli olan antimikrobiallere direnç geliştirmiş olabileceğini düşündürmüştür. Konuya ışık tutmak amacıyla araştırmalar yapılmaya devam etmektedir. Bu çalışmalardan birinde Lindmark ve ark. (2004), İsveç'te 2000-2004 yılları arasında, insanlar, tüketime sunulan etler ve sulardan elde edilen *Campylobacter* izolatlarının genetik karakterizasyonunu yapmış ve bu üçlü arasındaki antimikrobiyal direnç ilişkisini daha iyi anlayabilmek adına epidemiyolojik bağlantının söz konusu olup olmadığını da araştırmıştır. Elde ettikleri sonuçlar et tüketimi ile antibiyotik direnci arasındaki bağlantıyı doğrulamakla kalmayıp halk sağlığı açısından son derece önemli rezervuarların tanımlanmasına olanak sağlamıştır.

### 3.2. *Salmonella* spp.

Dünya çapında bu başlık altında en fazla üzerinde durulan bakterilerden biri de *Salmonella*'dır. Amerikan Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri CDC (Centers for Disease Control and Prevention), gıda üretimi amacıyla yetiştirilen hayvanlara çeşitli amaçlarla antibiyotik uygulamanın dirençli *Salmonella* türlerinin ortaya çıkmasına neden olduğunu, dirençli bakterilerin insanlara aktarımında kontamine hayvansal gıda tüketiminin önemli rol oynadığını bildirmiştir. Bu türlerin sebep olduğu enfeksiyonlarda tedavi seçenekleri oldukça kısıtlanmış durumdadır (Cohen ve Tauxe 1986, <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/nt-salmonella-508.pdf> Erişim Tarihi: 23 Şubat 2021)

*Salmonella* enfeksiyonlarında en fazla saptanan serotip *S. Typhimurium*'dur, ikinci sırada ise *S. Newport* yer alır. *S. Heidelberg* ve *S. Hadar*'a daha az rastlanmaktadır (DeWaal ve Grooters 2013). Dünya genelinde *Salmonella* türleri arasında çoklu ilaç direnç özelliği gösteren tipler giderek daha fazla tanımlanmaktadır. Bu nedenle hayati tehlike gösteren *Salmonellosis* olgularının tedavisinde florokinolonlar ve geniş spektrumlu sefalosporinler tercih edilir hale gelmiştir. Ancak *Salmonella* türleri arasında bu antimikrobiyal ajanlara karşı da duyarlılığın azaldığını gösteren bildirimlerin sayısı her geçen gün artmaktadır (Fey ve ark. 2000, Winokur ve ark. 2000).

### 3.3. *Escherichia coli*

Antimikrobiallere dirençli suşları ile gıda patojenleri arasında oldukça önemli bir yere sahip olan bir diğer bakteri de *Enterobacteriaceae* ailesinin en bilindik üyesi olan *Escherichia coli*'dir. *E. coli*, spesifik suşları insan ve hayvan hastalıklarına neden olabilen yaygın bir enterik patojendir. Dünya Sağlık



Örgütü'nün WHO (World Health Organization) temel antimikrobiyal direnç (AMR) endişesi olarak vurguladığı yedi türden oluşan gruplardan biridir ve bu nedenle antimikrobiyal direncin gelişiminin değerlendirilmesi için hizmet eder (Ibrahim ve ark 2016).

*E. coli*'nin altı ana diyarejenik patojeni bulunmaktadır ve her tip ya bir toksin ile ya da doğrudan etki ile konak hücreye bağlanma biçimi gösterir. Bu *E. coli* türleri, enterohemorajik *E. coli* (EHEC), enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), enteroinvaziv *E. coli* (EIEC), enteropatogenik *E. coli* (EPEC), enteroaggregatif *E. coli* (EAEC) ve diffuz adeziv *E. coli* (DAEC)'dir. Her spesifik tip, farklı mekanizmalar yoluyla diyareye neden olmaktadır. Her hastalık da farklı klinik semptomlarla kendini göstermektedir (Percival ve Williams 2014). En belirgin ve üzerinde iyi çalışılmış *E. coli* suşu enterohemorajik (EHEC) *E. coli* O157:H7'dir (Bavaro 2012).

*Escherichia coli*, insanlarda en önemli gıda kaynaklı patojenlerden biri olarak bilinmektedir. Kontamine tavuk eti gıda kaynaklı *E. coli* enfeksiyonunun önemli bir kaynağıdır (Parvin ve ark 2020). Kimi zaman hayatı tehdit eder boyutta hastalık oluşturan bu bakterilerin başta geniş spektrumlu beta laktamaz üretenler olmak üzere antibiyotiklere dirençli suşları son yıllarda dünya çapında endişe uyandırmaktadır.

### 3.4. *Staphylococcus aureus*

En önemli gıda kaynaklı patojenler arasında değerlendirilen *Staphylococcus aureus*, sindirim yoluyla vücuda alındığında kutanöz lezyonlar, mide bulantısı, şiddetli kusma ve ishal gibi semptomlarla seyreden bir hastalık tablosu oluşturmaktadır. Etken bunun yanında zatürre, osteomyelit ve toksik şok sendromu gibi şiddetli hastalıklara da neden olabilmektedir (<https://www.cdc.gov/mrsa/community/index.html> Erişim Tarihi: 25 Nisan 2021). Metisiline dirençli formu olan MRSA (Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*) ise ölümle sonuçlanabilen oldukça ağır seyirli enfeksiyonlara yol açabilmektedir (Parisi ve ark. 2016). MRSA suşları, görülen *S. aureus* vakalarının yaklaşık %44'ünden ve buna bağlı ölümlerin yaklaşık %20'den sorumludur (Di Ruscio ve ark. 2019). Önceleri sadece hastane veya toplum kaynaklı enfeksiyonlara neden olduğu düşünülen MRSA, giderek artan oranlarda çiftlik hayvanları ile ilişkilendirilmekte ve bu anlamda endişe yaratmaktadır (EFSA 2009, Larsen ve ark. 2016). Metisiline dirençli bu formların gıda üretimi amacıyla yetiştirilen hayvanlarda görülmeye başlaması dikkatleri üzerine toplamış ve hayvansal gıdaların olası bulaşmalar için kaynak oluşturup oluşturmayacağı ve gıda zinciri boyunca insanlara aktarımın yolunu açacak potansiyel kaynakların neler olabileceği konusunda soruları gündeme getirmiştir (Sallam ve ark. 2015). Nitekim dünyanın farklı bölgelerinden gıda kaynaklı MRSA'nın yarattığı hastalık olguları ile ilgili bildirimler gelmeye devam etmektedir. Sadece ABD'de her yıl yaklaşık 241 000 kişi MRSA ile kontamine gıdaların tüketilmesi sonucu gıda zehirlenmesine yakalanmaktadır (Zeaki ve ark. 2019). Salgınlar ise kimi zaman çok ciddi boyutlara ulaşabilmektedir. Örneğin Amerika'da 2017 yılında meydana gelen salgında 119 000 kişi MRSA nedeniyle hastalanmış ve bunlardan 20 000'i hayatını kaybetmiştir (<https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/68/wr/pdfs/mm6809e1-H.pdf> Erişim Tarihi: 04 Nisan 2021 ).

Klinik MRSA'nın en önemli kaynağı olarak proteince zengin hayvansal gıdalar görülmektedir (Chung ve ark. 2021). Bu ilişkiyi tam anlamıyla ortaya koyabilmek adına sığır eti, kanatlı eti, domuz eti ile çiğ inek ve koyun sütü gibi farklı yiyecek türleri araştırılmaktadır. Literatürde pek çok örneğinin bulunduğu bu çalışmaların da işaret ettiği üzere, uzun yıllar hastane enfeksiyonları ile gündemi fazlasıyla meşgul etmiş olan MRSA bu kez çiftlik hayvanları ve hayvansal gıdalar yoluyla toplum sağlığını etkileyerek adından uzun yıllar söz ettirecek gibi görünmektedir.

### 3.5. *Listeria monocytogenes*

Listeriyoz, gıda kaynaklı hastalıklar arasında oldukça önemli bir yere sahiptir. Etken *L. monocytogenes*, çiğ veya işlenmiş turp, lahana gibi sebzeler, süt ve süt ürünleri, balık, deniz ürünleri, sığır ve domuz eti, fermente sucuk vb. oldukça geniş yelpazedeki gıda gruplarında bulunabilmektedir (Rocourt ve ark. 1997). Listeriyoz, sağlıklı yetişkinlerde ve çocuklarda ortaya çıkabilmesine rağmen, yaşlılar, yeni doğanlar, hamile kadınlar ve bir dizi altta yatan hastalığı olan kişiler dahil olmak üzere bağışıklığı baskılanmış kişiler birincil risk altındadır ve bu kişilerde ölüm oranı %46 gibi yüksek bir düzeydedir (Aureli ve ark. 2000). İmmun sistemi güçlü bireylerde ise semptomlar genellikle non-invaziv gastrointestinal rahatsızlıklar şeklinde gözlenir (Liu 2006, Allen ve ark. 2016). Listeriyozisin tedavisinde ampicilin, rifampisin ya da penisilin+gentamisin kombinasyonu tercih edilmektedir.

Bunların yanında kotrimaksazol ikinci bir tedavi seçeneği olarak düşünülmektedir (Boisivon ve ark. 1990).

*Listeria monocytogenes*'in neden olduğu *listeriosis* salgınları bir istisna değildir (Keet ve Rip 2021). *L. monocytogenes* genellikle Gram-pozitif bakterilere karşı etkili olan antimikrobiyallere duyarlı olmasına rağmen yapılan araştırmalar sonucu gıda üretilen hayvanlardan, gıda üretim alanlarından ve gıdalardan elde edilen izolatların önemli düzeyde antimikrobiyal direnç geliştirdiği görülmektedir (Allen ve ark. 2016). Yapılan çalışmaların hemen hemen hepsi *L. monocytogenes* izolatlarının trimetoprim-sulfametaksazol, penisilin G, meropenem, amikasin ve vancomisine karşı dirençli olduğuna işaret etmektedir (Aksoy ve ark. 2018, Jamali ve ark. 2015, Usman ve ark. 2016, Osman ve ark. 2016, Harakeh ve ark. 2009, Aydın ve ark. 2017).

#### 4. DÜNYADA VE TÜRKİYE'DE ANTIMİKROBİYAL DİRENÇ SORUNU

WHO, 2001 yılında direnç sorununun kontrol altına alınabilmesi için “Antimikrobiyal Direncin Kontrol Altına Alınması” konulu raporunu yayınlamıştır. Raporunda sorunun bireysel değil toplumsal, ülkesel değil küresel olduğu ve ancak ülkelerin ortak çalışmalarıyla kontrol altına alınabileceği belirtilerek, kontrol stratejilerinin esasları belirlenmiştir (WHO 2000, WHO 2001a). WHO tarafından 2001 yılında antimikrobiyal direncin önlenmesi için “Küresel Antimikrobiyal Direnç Önleme Stratejisi” çalışmaları başlatılmış ardından 2014 yılında kapsamlı bir değerlendirme yapılmıştır. Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü (OIE) de, 2006 yılında veteriner hekimlik alanında kullanılan antimikrobiyallerin sorumlu ve bilinçli kullanımı konusunda bir kılavuz geliştirmiştir (WHO 2001b, EMEA 2006).

2011 yılında WHO Avrupa Bölge Ofisi'ne bağlı olarak faaliyetlerini yürüten 53 üye ülke; antibiyotik direncinin bölgede ilerlemesinin durdurulması, antibiyotik tüketim ve direnç sürveyans sistemlerinin geliştirilmesi ve direnç konusunda ülkeler arası bilgi paylaşımının artırılması amacıyla Antibiyotik Direnci Üzerine Avrupa Stratejik Eylem Planı'nı imzalama kararı almıştır. Türkiye'de de antimikrobiyal direnç ve akılcı antibiyotik kullanımı konusu hükümet programında yer alarak irade ortaya konulmuş, bunun gerçekleştirilebilmesi için yasal düzenleme yapılmış, ilgili birimler görevlendirilmiş ve kaynaklar tahsis edilmiştir (WHO 2011). Ülkemizde bu amaçla “Zoonozlar ve Zoonotik Etkenler, İlgili Antimikrobiyal Direnç ve Gıda Kaynaklı Salgınların İzlenmesi Yönetmeliği” hazırlanmıştır. Ayrıca Ulusal Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Sistemi (UAMDSS) başlatılmıştır.

Antibiyotiklerin üretim ve kullanım miktarları hakkındaki en güvenilir bilgiler ABD ve AB üyesi ülkelere aittir. Durum izleme sistemleri aracılığıyla dünya çapında gözlem altına alınmaktadır. Amerika'da bu amaçla Enterik Bakteriler için Ulusal Antimikrobiyal Direnç İzleme Sistemi (NARMS), Avrupa'da ise Avrupa Antimikrobiyal Direnç Gözetim Ağı (EARS-Net) kurulmuştur (<https://www.ecdc.europa.eu/en/about-us/partnerships-and-networks/disease-and-laboratory-networks/ears-net>, <https://www.cdc.gov/narms/index.html> Erişim tarihi:14.11.2021). 22 Ekim 2015'te WHO tarafından antimikrobiyal direnç sürveyansını standart hale getirmek için ilk küresel ortak çalışma olan Küresel Antimikrobiyal Direnç ve Kullanım Gözetim Sistemi (GLASS) başlatılmıştır (<https://www.who.int/initiatives/glass> Erişim tarihi:14.11.2021).

#### 5. NASIL BİR GELECEK BİZİ BEKLİYOR?

Dünya çapında antibiyotik tüketiminin yılda 100 000 – 200 000 ton arasında olduğu tahmin edilmektedir. 1996 yılında Avrupa Birliği'nde yaklaşık 10 200 ton antibiyotik tüketilmiştir. Bu miktarın yaklaşık %50'si veteriner ilaçlarında ve büyümeyi destekleyici maddelerde kullanılmıştır (Kümmerer 2002). ABD'de de üretilen antibiyotiklerin %70'i (15-25 bin tonu) hayvan yetiştiriciliğinde tedavi dışı amaçlarla kullanılmaktadır. ABD'de hayvancılık alanında antibiyotik kullanımı, tıp alanındaki tüketimin sekiz katıdır. Bu durum hayvan yetiştiriciliğinde antibiyotiklerin aşırı, kontrolsüz ve bilinçsiz kullanımını gözler önüne sermektedir (FDA 2015).

Antimikrobiyal direnç, dünya çapında yılda yaklaşık 700 000 ölüme neden olur ve her ülke potansiyel olarak bu durumdan etkilenir. Düzgün bir şekilde ele alınmazsa, sayı 2050 yılına kadar yılda 10 milyona ulaşabilir

(Joshi

2017,

[https://www.usp.org/ourimpact/antimicrobialresistance?gclid=CjwKCAjwZCKBhBkEiwAM4qfF\\_6js\\_NYYsJEIbArVtHyd0u9HriLL2Ajv0da72jCmszM\\_p4FZluQPBoCKYsQAvD\\_BwE](https://www.usp.org/ourimpact/antimicrobialresistance?gclid=CjwKCAjwZCKBhBkEiwAM4qfF_6js_NYYsJEIbArVtHyd0u9HriLL2Ajv0da72jCmszM_p4FZluQPBoCKYsQAvD_BwE) Erişim Tarihi: 29.08.2021). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Eski Başkanı Dr. Gro Harlem Brundtland, 2000 yılı

raporunda, insanlığın “Antibiyotiklerin Öncesi Çağa Dönüş” riski altında olduğunu ve tüm mevcut mali ve bilimsel kaynakların bu tehlikenin önlenmesine harcanması gerektiğini ifade etmiştir (WHO 2000).

## 6. ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ KONUSUNDA NELER YAPILMALIDIR?

Veteriner hekimlikte kullanılan ilaçların bilhassa antibiyotiklerin bilinçli kullanımı son derece önem arz etmektedir. Antibiyotik ihtiyacını azaltabilmek adına hastalıklar sürekli kontrol altına alınmalı ve antibiyotik kullanımının yanında bütüncül yaklaşımlarda bulunulmalıdır. Bu işleyişte asıl amaç antibiyotiklerin sağaltıcı etkisini yükselterek direnç geliştiren mikroorganizmaların oluşumunu en aza indirmektir. Günümüzde tüm dünyada gizli bir salgın olarak yayılan antimikrobiyal direncin küresel bir halk sağlığı sorunu olduğu tıp ve veteriner otoriteleri tarafından kabul edilmekte; tüm dünya devletleri, uluslararası insan, hayvan sağlığı ve gıda-tarım kuruluşları, üniversiteler ve toplum yararına çalışan organizasyonlar, sorunun yayılmasını önlemek ve oluşumunu yavaşlatmak için çalışmalar yapmaktadırlar.

Antimikrobiyal direnç konusu, multidisipliner bir yaklaşımla ele alınmalıdır. 14 Kasım 2014 tarihinde Avrupa Veteriner Hekimler Federasyonu (FVE), tıp hekimleri ve diş hekimleri, ortak bir deklarasyon ile antibiyotik direnci konusuna dikkat çekmişlerdir (<https://cedentists.eu/component/newsletter/newsletter/39.html?tmpl=newsletter> Erişim Tarihi: 29.08.2021). 16 Kasım 2015 tarihinde yayımlanan bir deklarasyon ile de doktorlar ve veteriner hekimler arasında antimikrobiyal direncin önlenmesi noktasında sıkı bir diyalogun ve yakın bir iş birliğinin olması gerektiği vurgulanmıştır. Bu noktada da özellikle “Tek Tıp, Tek Sağlık” yaklaşımına atıfta bulunulmuştur (WHO 2016).

Antimikrobiyal direnç önleme noktasında yapılacak çalışmalar “Tek Sağlık Yaklaşımı” içerisinde ele alınmalı, yürütülecek çalışmalar bir merkezde toplanarak koordinasyon sağlanmalıdır. Antimikrobiyal direnç sorunu, kısa vadeli bir yaklaşımla çözülebilecek nitelikte değildir. Dolayısıyla uzun süreli mücadeleyi hedef alacak bir kararlılıkla çalışmalar gerçekleştirilmelidir.

Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü tarafından daha önceden 18 Kasım olarak ifade edilen “Antibiyotik Farkındalık Günü” 16 - 22 Kasım tarihlerini içine alacak şekilde bir haftaya yayılarak içinde bulunulan probleme daha fazla ışık tutulması amaçlanmıştır.

Yürütülen tüm bu faaliyetlerin sorunun çözümüne hangi ölçüde yarar sağlayacağını zaman gösterecektir. Dolayısıyla antibiyotiklere alternatif tedavi yaklaşımları üzerine çalışmaların yapılması da son derece önemlidir.

## 7. KAYNAKLAR

Aksoy A, Sezer Ç, Vatansever L, Gülbaz G: Presence and antibiotic resistance of *Listeria monocytogenes* in raw milk and dairy products. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 24 (3): 415-421, 2018. doi:10.9775/kvfd.2017.19081

Allen KJ, Wałęcka-Zacharska E, Chen JC, Kosek-Paszkowska K, Devlieghere F, Van Meervenne EV, Osek J, Wiczorek K, Bania J: *Listeria monocytogenes*-An examination of food chain factors potentially contributing to antimicrobial resistance. *Food Microbiol*, 54: 178-189, 2016. doi: 10.1016/j.fm.2014.08.006

Aureli P, Fiorucci GC, Caroli D, Marchiaro G, Novara O, Leone L, Salmaso S: An outbreak of febrile gastroenteritis associated with corn contaminated by *Listeria monocytogenes*. *New England Journal of Medicine*, 342(17): 1236–1241, 2000. doi:10.1056/nejm200004273421702

Aydın A, Sudağdan M, Çoban A: Gıda kaynaklı *Listeria monocytogenes* suşlarında antibiyotik ve ağır metal direnci. 7. Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi, 4-8 Ekim, Kuşadası, İzmir, Turkey, 2017

Bavaro MF: *E. coli* O157:H7 and Other Toxigenic Strains: The Curse of Global Food Distribution. *Current Gastroenterology Reports*, 14(4), 317–323, 2012. doi:10.1007/s11894-012-0264-6

Behravesh CB, Williams IT, Robert V: Tauxe emerging foodborne pathogens and problems: expanding prevention efforts before slaughter or harvest. In: Choffnes ER, Relman DA, Olsen LA, Hutton R, Mack A, (Eds): *Improving Food Safety Through A One Health Approach*. p.66. the National Academies Press, Washington DC, 2012.

- Bhullar K, Waglehner N, Pawlowski A, Koteva K, Banks ED, Johnston MD, Barton HA, Wright GD: Antibiotic resistance is prevalent in an isolated cave microbiome. *PLoS ONE*. Volume 7: Issue 4, e34953, 2012. doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034953>
- Boisivon A, Guiomar C, Carbon C: In vitro bactericidal activity of amoxicillin, gentamicin, rifampicin, ciprofloxacin and trimethoprim-sulfamethoxazole alone or in combination against *Listeria monocytogenes*. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 9(3): 206–209, 1990. doi:10.1007/bf01963839
- Bradford PA: Extended-spectrum  $\beta$ -Lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(4): 933–951, 2001. doi:10.1128/cmr.14.4.933-951.2001.
- Campos CB, Fenner I, Wiese N, Lensing C, Christner M, Rohde H, Hentschke M: Prevalence and genotypes of extended spectrum beta-lactamases in Enterobacteriaceae isolated from human stool and chicken meat in Hamburg, Germany. *International Journal of Medical Microbiology*, 304(5-6): 678–684, 2014. doi:10.1016/j.ijmm.2014.04.012
- Chung HY, Kim YT, Kwon JG, Im HH, Ko D, Lee JH, Choi SH: Molecular interaction between methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and chicken breast reveals enhancement of pathogenesis and toxicity for food-borne outbreak. *Food Microbiology*. Volume 93: 103602, 2021.
- Coculescu BI: Antimicrobial resistance induced by genetic changes. *J Med Life* 2: 114–123, 2009.
- Cohen M, Tauxe R: Drug-resistant *Salmonella* in the United States: an epidemiologic perspective. *Science*, 234(4779): 964–969, 1986. doi:10.1126/science.3535069
- Cox G, Wright GD: Intrinsic antibiotic resistance: mechanisms, origins, challenges and solutions. *Int J Med Microbiol* 303: 287–292, 2013.
- Davies J, Davies D: Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol Mol Biol Rev* 74: 417–433, 2010.
- DeWaal CS, Grooters SV: Antibiotic Resistance in Foodborne Pathogens. Center for Science in the Public Interest. Washington, DC 20005, 2013. Available at <https://cspinet.org/resource/antibiotic-resistance-foodborne-pathogens>. Erişim tarihi: 04 Eylül 2020.
- Di Ruscio F, Guzzetta G, Bjørnholt JV, Leegaard TM, Moen A, Merler S, Freiesleben de Blasio B: Quantifying the transmission dynamics of MRSA in the community and healthcare settings in a low-prevalence country. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 116: 14599–14605, 2019.
- Dierikx CM, van der Goot JA, Smith HE, Kant A, Mevius DJ: Presence of ESBL/AmpC -producing *Escherichia coli* in the broiler production pyramid: a descriptive study. *PLoS ONE*, 8(11): e79005, 2013. doi:10.1371/journal.pone.0079005
- Elbashir S, Parveen S, Schwarz J, Rippen T, Jahneke M, DePaola A: Seafood pathogens and information on antimicrobial resistance: A review. *Food Microbiology*, 70: 85–93, 2018. doi:10.1016/j.fm.2017.09.011
- Etebu E, Arikekpar I: Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives *IJAMBR* 4: 90-101, 2016.
- European Food Safety Authority (EFSA): Scientific opinion of the panel on biological hazards on a request from the European commission on Assessment of the public health significance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in animal and foods. *EFSA J* 993: 1–73, 2009.
- European Food Safety Authority (EFSA): Scientific opinion on the public health risks of bacterial strains producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases and/or AmpC  $\beta$ -lactamases in food and food-producing animals. *EFSA Journal* 9(8):2322, 2011
- European Medicines Agency Veterinary Medicines and Inspections ( EMEA ): COMMITTEE FOR MEDICINAL PRODUCTS FOR VETERINARY USE (CVMP). CVMP STRATEGY ON ANTIMICROBIALS 2006-2010 AND STATUS REPORT ON ACTIVITIES ON

- ANTIMICROBIALS. 7 Westferry Circus, Canary Wharf, London, E14 4HB, UK. 2006. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/committee-medicinal-products-veterinary-use-strategy-antimicrobials-2006-2010-status-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/committee-medicinal-products-veterinary-use-strategy-antimicrobials-2006-2010-status-report_en.pdf) Erişim Tarihi: 29.08.2021
- Fajardo A, Martínez-Martín N, Mercadillo M, Galán JC, Ghysels B, Matthijs S, Cornelis P, Wiehlmann L, Tümmler B, Baquero F, Martínez JL: The neglected intrinsic resistome of bacterial pathogens. *PLoS One* 3: e1619, 2008.
- Fey PD, Safranek TJ, Rupp ME, Dunne EF, Ribot E, Iwen PC, Hinrichs SH: Ceftriaxone-resistant *Salmonella* infection acquired by a child from cattle. *New England Journal of Medicine*, 342(17): 1242–1249, 2000. doi:10.1056/nejm200004273421703
- Harakeh S, Saleh I, Zouhairi O, Baydoun, E, Barbour E, Alwan N: Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from dairybased food products. *Sci Total Environ*, 407 (13): 4022-4027, 2009. doi: 10.1016/j.scitotenv.2009.04.010
- Ibrahim DR, Dodd CER, Stekel DJ, Ramsden SJ, Hobman JL: Multi drug and extended spectrum beta-lactamase resistant *Escherichia coli* isolated from a dairy farm. *FEMS Microbiology Ecology*. ScholarOne Support 1-434/964-4100. P:1-37. 2016.
- İplikçioğlu Çil G, Cengiz G, Arslan B, Şireli UT. Tavuk eti örneklerinde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten *Escherichia coli* suşlarının belirlenmesi *Eurasian J Vet Sci*, 36, 3: 187-192, 2020. doi: 10.15312/EurasianJVetSci.2020.277
- Jamali H, Paydar M, Ismail S, Looi CY, Wong WF, Radmehr B, Abedini A: Prevalence, antimicrobial susceptibility and virulotyping of *Listeria* species and *Listeria monocytogenes* isolated from open-air fish markets. *BMC Microbiol*, 15: 144, 2015. doi: 10.1186/s12866-015-0476-7
- Joshi MP: The antimicrobial resistance challenge: no room for complacency. Brownbag at USAID Crystal Drive, Arlington, VA. 2017.
- Jukes TH: Public health significance of feeding low levels of antibiotics to animals. *Advances in Applied Microbiology* Volume 16: p.1–30, 1973. doi:10.1016/s0065-2164(08)70021-2
- Keet R, Rip D: *Listeria monocytogenes* isolates from Western Cape, South Africa exhibit resistance to multiple antibiotics and contradicts certain global resistance patterns. *AIMS Microbiology*. Vol. 7- 1, 10–58. 2021.
- Kümmerer, K., Introduction : Pharmaceuticals in the Environment- Chapter 1; Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs) as environmental pollutants, EPA, <http://www.epa.gov/esd/chemistry/pharma/kummer/intro.pdf> , 2002.
- Larsen J, Stegger M, Andersen PS, Petersen A, Larsen AR, Westh H, Agersø Y, Fetsch A, Kraushaar B, Käsbohrer A, Feßler AT, Schwarz S, Cuny C, Witte W, Butaye P, Denis O, Haenni M, Madec JY, Jouy E, Laurent F, Battisti A, Franco A, Alba P, Mammina C, Pantosti A, Monaco M, Wagenaar JA, deBoer E, van Duijkeren E, Heck M, Domínguez L, Torres C, Zarazaga M, Price LB, Skov RL: Evidence for human adaptation and foodborne transmission of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin. Infect. Dis.* 63: p. 1349–1352, 2016. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw532>.
- Lindmark H, Harbom B, Thebo L, Andersson L, Hedin G, Osterman B, Lindberg T, Andersson Y, Westöö A, Olsson Engvall, E: Genetic characterization and antibiotic resistance of *Campylobacter jejuni* isolated from meats, water, and humans in Sweden. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(2): 700–706, 2004. doi:10.1128/jcm.42.2.700-706.2004
- Liu D: Identification, subtyping and virulence determination of *Listeria monocytogenes*, an important foodborne pathogen. *J Med Microbiol*, Vol.55: p.645-659, 2006. doi: 10.1099/jmm. 0.46495-0
- Martinez JL: General principles of antibiotic resistance in bacteria. *Drug Discovery Today: Technologies*. Volume 11: p. 33-39, 2014.
- Mead PS, Slutsker L, Dietz V, McCaig LF, Bresee JS, Shapiro C, Tauxe RV: Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Diseases*, 5(5): p.607–625, 1999. doi:10.3201/eid0505.990502

- Nachamkin I, Szymanski CM, Blaser MJ: *Campylobacter* 3<sup>rd</sup>. American Society for Microbiology. 978-1-55581-437-3. 2008
- Nulty KM, Soon JM, Wallace CA, Nastasijevic I: Antimicrobial resistance monitoring and surveillance in the meat chain: A report from five countries in the European Union and European Economic Area. *Trends in Food Science & Technology*, 58: 1–13, 2016. doi:10.1016/j.tifs.2016.09.010
- Osman KM, Samir A, Abo-Shama UH, Mohamed EH, Orabi A, Zolnikov T: Determination of virulence and antibiotic resistance pattern of biofilm producing *Listeria* species isolated from retail raw milk. *BMC Microbiol*, 16: 263, 2016. doi: 10.1186/s12866-016-0880-7
- Parisi A, Caruso M, Normanno G, Latorre L, Sottili R, Miccolupo A, Fracalvieri R, Santagada G: Prevalence, antimicrobial susceptibility and molecular typing of Methicillin- Resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA)in bulk tank milk from southern Italy. *Food Microbiol*. 58: 36–42, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.03.004>
- Parvin S, Talukder S, Ali Y, Chowdhury EH, Rahman T, Islam Taohidul: Antimicrobial resistance pattern of *Escherichia coli* isolated from frozen chicken meat in Bangladesh. *Pathogens*, 9, 420, p:1-17. 2020. doi:10.3390/pathogens9060420
- Percival SL, Williams DW: *Escherichia coli*. *Microbiology of Waterborne Diseases*, 89–117, 2014. doi:10.1016/b978-0-12-415846-7.00006-8
- Perry JA, Westman EL, Wright GD: The antibiotic resistome: what's new?. *Current Opinion in Microbiology*. 21: p. 45–50, 2014. doi:10.1016/j.mib.2014.09.002.
- Reygaert WC: An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria *AIMS Microbiology*. Vol. 4(3): p.482–501, 2018. doi: 10.3934/microbiol.2018.3.482.
- Rocourt J, Cossart P: *Listeria monocytogenes*. In, Doyle MP, Buechat LR, Montville TJ (Eds): *Food Microbiology-Fundamentals and Frontiers*. 337352, DC, ASM Press, Washington, 1997. pp. 337–352.
- Sallam KI, Abd-Elghany SM, Elhadidy M, Tamura T: Molecular characterization and antimicrobial resistance profile of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in retail chicken. *J Food Prot*. 78: 1879–1884, 2015. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-15-150.
- Sandiumenge A, Diaz E, Rodriguez A, Vidaur L, Canadell L, Olona M, Rue M, Rello J: Impact of diversity of antibiotic use on the development of antimicrobial resistance *J Antimicrob Chemother*, 57(6):1197-204, 2006. doi: 10.1093/jac/dkl097
- Şanlı Y, Kaya S: *Veteriner Farmakoloji ve İlaçla Sağlık Seçenekleri*. Medisan Yayınevi, Ankara, 571-650, 1994.
- Tünay H, Demirdal T, Demirtürk N: *Acinetobacter* enfeksiyonlarında dirençle ilgili değişen tanımlamalar ve dirençte güncel durum. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 42(4):123-126, 2012. doi:10.5222/TMCD.2012.1239
- U.S. Food and Drug Administration ( FDA ) : 2014 Summary Report on Antimicrobials Sold or Distributed for Use in Food-Producing Animals. Food and Drug Administration Department of Health and Human Services December, 2015. <https://www.fda.gov/media/94906/download>.
- Usman UB, Kwaga JKP, Kabir J, Olonitola OS: Isolation and antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* from raw milk and milk products in Northern Kaduna State, Nigeria. *J Appl Environ Microbiol*, 4 (3): 46-54, 2016. doi: 10.12691/jaem-4-3-1
- White DG, Zhao S, Simjee S, Wagner DD, McDermott PF: Antimicrobial resistance of foodborne pathogens. *Microbes and Infection*, 4(4): 405–412, 2002. doi:10.1016/s1286-4579(02)01554-x.
- Willis W, Murray C: *Campylobacter jejuni* seasonal recovery observations of retail market broilers. *Poultry Science*, 76(2): 314–317, 1997. doi:10.1093/ps/76.2.314
- Winokur PL, Brueggemann A, DeSalvo DL, Hoffmann L, Apley MD, Uhlenhopp EK, Pfaller MA, Doern GV: Animal and Human Multidrug-Resistant, Cephalosporin-Resistant *Salmonella* Isolates

Expressing a Plasmid-Mediated CMY-2 AmpC beta -Lactamase. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44(10): 2777–2783, 2000. doi:10.1128/aac.44.10.2777-2783.2000

World Health Organization (WHO): Communicable Diseases Cluster. (2000). Overcoming antimicrobial resistance. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/66672>

World Health Organization ( WHO ) : WHO Global Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance. World Health Organization 2001a. [https://www.who.int/drugresistance/WHO\\_Global\\_Strategy\\_English.pdf](https://www.who.int/drugresistance/WHO_Global_Strategy_English.pdf) Erişim Tarihi: 29.08.2021

World Health Organization ( WHO ) : WHO Global Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance Executive Summary. World Health Organization 2001b. <https://www.who.int/drugresistance/WHO%20Global%20Strategy%20%20Executive%20Summary%20-%20English%20version.pdf?ua=1> Erişim Tarihi: 29.08.2021,

World Health Organization ( WHO ) Regional Committee for Europe: European strategic action plan on antibiotic resistance. 2011. <https://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/antimicrobial-resistance/policy/european-strategic-action-plan-2011-2020> Erişim Tarihi: 29.08.2021

World Health Organization ( WHO ): Global action plan on antimicrobial resistance. SIXTY-NINTH WORLD HEALTH ASSEMBLY. 2016. [https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf\\_files/WHA69/A69\\_24-en.pdf](https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA69/A69_24-en.pdf) Erişim Tarihi: 29.08.2021

Wright GD: The antibiotic resistome: the nexus of chemical and genetic diversity. *Nature Reviews Microbiology* volume 5: pages175–186, 2007.

Zeaki N, Johler S, Skandamis PN, Schelin J: The role of regulatory mechanisms and environmental parameters in staphylococcal food poisoning and resulting challenges to risk assessment. *Front. Microbiol.* 10: 1307, 2019. doi: 10.3389/fmicb.2019.01307

**DÖNGÜSEL EKONOMİDE ESNEK AMBALAJLARIN YERİ**  
**FLEXIBLE PACKAGING IN THE CIRCULAR ECONOMY**

**Özlem ESMER<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Doç. Dr., Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği, İzmir, Türkiye

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4652-0514>

**Betül ER<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği, İzmir, Türkiye

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9588-0810>

**ÖZET**

Dünya nüfusunun giderek artması, kaynaklarımızın sınırlı olması, iklim değişikliği ve oluşan çevresel sorunlar sürdürülebilir kalkınma anlayışının önemine neden olmuştur. Sürdürülebilir kalkınma anlayışının, mevcut doğrusal ekonomi (al-yap-at) yaklaşımı ile gerçekleştirilemeyeceğinin anlaşılması üzerine yeni ekonomik yaklaşımlar önem kazanmıştır. Bu yaklaşımlardan biri olan döngüsel ekonomi; üretim, dağıtım ve tüketim süreçlerinde malzemelerin azaltılmasını, yeniden kullanılmasını, geri dönüştürülmesini ve geri kazanılmasını amaçlayan bir ekonomik modeldir. Kaynak ve atıkların kapalı bir döngüde sürekli olarak işlendiği, “üretim-tüketim-geri dönüşüm/geri kazanım” odaklı bu ekonomik modelde kaynak kullanımının ve oluşan atık miktarının en aza indirilmesi amaçlanmaktadır. Bu amaç doğrultusunda, atık miktarını azaltmak için oluşan atıkların geri dönüştürülmesi benimsenmesi gereken bir yaklaşımdır.

Ambalaj sektörü, döngüsel ekonomiye geçiş sürecinde önemli bir paya sahiptir ve ambalaj atık miktarının azaltılması için ambalaj malzemelerinin geri dönüştürülebilir özellikte olması gerekmektedir. Esnek ambalajlama, dünya üzerinde en hızlı büyüyen ambalaj sektörlerinden biridir. Ambalaj sektöründe kullanılan esnek ambalajların; %70-80'i geri dönüştürülebilir tek katmanlı mono-polietilen (PE), mono-polipropilen (PP) veya iki katmanlı polietilen/polipropilen (PE/PP) ambalaj yapılarıdır. Geri kalan %20-30'u, alüminyum folyo, kağıt, poliamid (PA), polietilen tereftalat (PET), etilen vinil alkol (EVOH) gibi diğer malzemeleri içeren çok katmanlı yapılarıdır ve bu esnek ambalajların teknik olarak geri dönüştürülmesi oldukça zordur. Ambalaj malzemelerinin döngüsel ekonomi kapsamında, geri dönüştürülebilir özellikte olması ambalajın çevre üzerindeki olumsuz etkilerinin azaltılması açısından oldukça önemlidir.

Bu çalışmada; döngüsel ekonomi kapsamında Avrupa Birliği ve ülkemizde ambalaj ile ilgili yönetmelikler, döngüsel ekonomide plastik ambalajlar, döngüsel ekonomi kapsamında ambalaj tasarımı, döngüsel ekonomide esnek ambalajlar, geri dönüştürülebilir ve geri dönüştürülemeyen esnek ambalaj yapıları ve esnek ambalajların geri dönüşüm süreçleri ile ilgili bilgi verilmesi amaçlanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Döngüsel ekonomi, esnek ambalajlar, atık, geri dönüşüm.

**ABSTRACT**

Increasing world population, limited resources, climate change and environmental problems have led to an increase in the importance of sustainable development. New economic approaches have gained importance upon the realisation that the understanding of sustainable development cannot be achieved with the current linear economy (buy-build-dispose) approach. Circular economy, one of these approaches, is an economic model that aims to reduce, reuse, recycle and recover materials in production, distribution and consumption processes. In this "production-consumption-recycling/recovery" oriented economic model where resources and wastes are continuously processed in a closed cycle, it is aimed to minimise the use of resources and the amount of waste generated. This



purpose, recycling of wastes generated to reduce the amount of waste is an approach that should be adopted.

The packaging sector has an important share in the transition to a circular economy and packaging materials should be recyclable in order to reduce the amount of packaging waste. Flexible packaging is one of the fastest growing packaging sectors in the world. Of the flexible packaging used in the packaging sector; 70-80% is recyclable mono-layer mono-polyethylene (PE), mono-polypropylene (PP) or two-layer polyethylene/polypropylene (PE/PP) packaging structures. The remaining 20-30% are multilayer structures containing other materials such as aluminium foil, paper, polyamide (PA), polyethylene terephthalate (PET), ethylene vinyl alcohol (EVOH), etc. and these flexible packages are technically very difficult to recycle. It is very important that packaging materials are recyclable within the scope of circular economy in order to reduce the negative effects of packaging on the environment.

In this study, it is aimed to give information about the regulations related to packaging in the European Union and in our country within the scope of circular economy, plastic packaging in circular economy, packaging design within the scope of circular economy, flexible packaging in circular economy, recyclable and non-recyclable flexible packaging structures and recycling processes of flexible packaging.

**Keywords:** Circular economy, flexible packaging, waste, recycling.

## 1. GİRİŞ

Doğrusal ekonomi, kaynakların ürünlere dönüştürüldüğü, kullanıldığı ve ardından oluşan atıkların geri dönüştürülmeyle atıldığı 'al-yap-at' anlayışı odaklı bir ekonomik yaklaşımdır. Bu nedenle, üretim ve tüketim atıklarını en aza indirme veya geri dönüştürme yaklaşımı sınırlandırılmıştır. Doğrusal ekonomi modeli temelde bir uçta kitlesel üretime, diğer uçta ise kitlesel tüketime dayanmaktadır. (Sillanpaa vd., 2019).

Kaynaklarımızın sınırlı olması ve tüketimin her geçen gün artması sürdürülebilir bir ekonomi anlayışının önemini bir kez daha ortaya çıkarmıştır. Sürdürülebilir kalkınma anlayışının, mevcut doğrusal ekonomi (al-yap-at) yaklaşımı ile gerçekleştirilemeyeceğinin anlaşılması yeni ekonomik yaklaşımların önem kazanmasına neden olmuştur. Bu ekonomik yaklaşımlardan biri de döngüsel ekonomidir (Türkmen, 2020). Döngüsel ekonomi, atıkların yeniden kaynak olarak üretim akışına girdiği, böylece ürünlerin veya kaynakların değerini koruduğu dinamik ve daha verimli bir "üretim-tüketim-geri dönüşüm/geri kazanım" yapısına dayanmaktadır. Döngüsel ekonomi, kaynak ve atıkların kapalı bir döngüde sürekli olarak yeniden işlendiği, değerli kaynaklardan (su, enerji, besin vb.) tasarruf sağlayan, tüketimi ve atıkları azaltan, çevreyi koruyan, aynı zamanda yeni istihdam alanları yaratan ve yeni pazarlar keşfeden bir ekonomik modeldir (Sillanpaa vd., 2019).

Döngüsel ekonomi; üretim, dağıtım ve tüketim süreçlerinde malzemelerin azaltılmasını, yeniden kullanılmasını, geri dönüştürülmesini ve geri kazanılmasını amaçlayan sürdürülebilir bir kalkınma sistemidir (Woźniak vd., 2018). Doğrusal ekonomide, hammadde proses edildikten ve üretilen ürün kullanıldıktan sonra geri kalan atıklar atılırken; döngüsel ekonomi, kullanım ömrünü tamamlamış ürünlerin yani atıkların tekrar kaynak haline getirilerek kapalı bir döngü ile atık miktarını en aza indirmeyi amaçlamaktadır. Döngüsel ekonomi; "yeniden kullan, yeniden kullanıyorsan geri dönüştür" odaklı bir ekonomik modeldir (Stahel, 2016). Döngüsel ekonomi, atıkların ve kaynak kullanımının azaltılmasını amaçlayan, ürün ve malzemelerin kapalı bir döngüde tutulduğu ve tüm bunları çevreyi koruma ve sosyoekonomik fayda sınırları içinde yapmayı amaçlayan sürdürülebilir bir ekonomik modeldir (Morsetto, 2020).

**Tablo 1.** Doğrusal ekonomi ve döngüsel ekonomi arasındaki farklar (Türkiye Döngüsel Ekonomi Platformu, 2022)

	<b>Doğrusal Ekonomi</b>	<b>Döngüsel Ekonomi</b>
Yöntem	Al-Yap-At	Azalt- Yeniden Kullan-Geri Dönüştür
Odak	Eko-etkinlik	Eko-verimlilik
Sistem sınırları	Kısa vadeli, satın almadan satışa	Uzun vadeli, çoklu yaşam döngüleri
Yeniden kullanım	Aşağı dönüşüm	İleri dönüşüm, yüksek kalitede geri dönüşüm

Tablo 1’de doğrusal ekonomi ve döngüsel ekonomi arasındaki farklar verilmiştir. Tablo 1’de de görüldüğü gibi, doğrusal ekonomi eko-etkinlik odaklı yani kaynak kullanımının azaltılmadığı sadece kaynağın ürünlere dönüşürken amacına uygun olmasının amaçlandığı bir modeldir. Döngüsel ekonomi ise eko-verimlilik odaklı yani kaynak kullanımını ve oluşan atık miktarını azaltırken ürünün değerini artırmayı amaçlayan bir modeldir. Atıkların geri dönüştürülmediği “al-yap-at” anlayışına sahip doğrusal ekonomi aşağı dönüşümü, atıkların yeniden kullanıldığı geri dönüştürüldüğü bir anlayışa sahip olan döngüsel ekonomi ise hem çevresel hem ekonomik olarak “ileri dönüşüm” stratejisini uygulayan bir modeldir (Wang vd., 2011; Niero vd., 2017).

Döngüsel ekonomi yaklaşımı, kapalı bir döngü oluşturmak ve doğal kaynak kullanımını en aza indirmek için; malzemelerin yeniden kullanıldığı, onarıldığı, yenilendiği ve geri dönüştürüldüğü sürdürülebilir bir yönetim anlayışına odaklanmaktadır. Bu ekonomik modelde, atıklar tekrar üretim akışına girebilmekte ve bir kaynak olarak kullanılabilir. Kaynaklarımızın sınırlı olduğu Dünya’ımızda atıkların yeniden kaynak olarak kullanılması, çevresel sorunlarımızın azalmasına ve gelecek nesiller için kaynaklarımızın korunmasına olanak tanımaktadır (Khajuria vd., 2022; Erdiaw-Kwasie vd., 2023).

## 2. DÖNGÜSEL EKONOMİ KAPSAMINDA AMBALAJ İLE İLGİLİ YÖNETMELİKLER

Bu bölümde; Avrupa Birliği ve ülkemiz tarafından ambalaj atık miktarını azaltmak ve döngüsel ekonomi modeline geçmek için uygulamaya koyulan yönetmelikler, düzenlemeler ve politikalara değinilmiştir.

### 2.1. Döngüsel Ekonomi Kapsamında AB’de Ambalaj ile İlgili Yönetmelikler

Avrupa Birliği (AB), kaynak kullanımını ve atık oluşumunu azaltan, sera gazı emisyonunu en aza indirmeyi amaçlayan “döngüsel ekonomi” üretim ve tüketim modelini desteklemektedir. Bu model, kaynakların mümkün olduğunca uzun süre üretim ve tüketimde akışında tutulduğu uzun ömürlü tasarım, bakım, onarım, yeniden kullanım ve geri dönüşüm odaklı bir ekonomik yaklaşımdır. Ambalaj, döngüsel ekonomi modelinin uygulanabilme potansiyeline sahip olduğu sektörler arasında yer almaktadır. Bu nedenle ambalaj ve ambalaj atıkları, AB’nin doğrusal ekonomiden döngüsel ekonomiye geçiş sürecinde ele alması gerektiği sektörlerden biridir (Directive EU, 2022/94/62). AB, döngüsel ekonomi modeline geçiş kapsamında ambalaj ile ilgili birçok yönetmelik ve hedef ortaya koymuştur.

Avrupa Birliği 2008/98 nolu Atık Yönetmeliği’nde atık oluşumunu azaltmayı ve atık yönetimini çevre ve insan sağlığını koruyarak ortaya koymayı amaçlamaktadır (Directive EU, 2008/98). Bu yönetmelikte 2018 yılında yaptığı değişiklik ile; kentsel atıkların geri dönüşüm hedefleri 2025, 2030 ve 2035 yılları için sırasıyla ağırlıkça en az %55, %60 ve %65 olarak belirlenmiştir (Directive EU, 2018/851).

Avrupa Birliği 2018 yılında ambalaj atıklarının oluşumunu önlemek ve ambalaj atıklarının bertarafı yerine yeniden kullanımını, geri dönüşümünü ve diğer geri kazanım biçimlerini teşvik ederek döngüsel ekonomiye geçişe katkıda bulunmak amacıyla 94/62/EC nolu Ambalaj ve Ambalaj Atıkları Yönetmeliği’ni güncelleyerek yayınlamıştır. Bu yönetmeliğe göre; 2025 yılına kadar tüm ambalaj atıklarının ağırlıkça en az %65’inin, 2030 yılına kadar ise %70’inin geri dönüştürülmesi gerekmektedir. Yayımlanan yönetmeliğe göre; malzeme başına geri dönüşüm hedefleri ise plastikler için 2025 ve 2030 yılları için sırasıyla %50 ve %55 olarak belirlenmiştir (Directive EU, 2018/852).

Plastik poşet kullanımının azaltılmasına yönelik, 94/62/EC nolu Ambalaj ve Ambalaj Atıkları Yönetmeliği’nde yapılan bir değişik ile birlikte 31 Aralık 2018 tarihi itibari ile plastik poşetler

ücretlendirilmiştir ve 2025 yılına kadar kişi başı plastik poşet kullanımının 40 olması hedeflenmiştir (Directive EU, 2015/720).

Plastik malzemelerin sürdürülebilirliğini artırmak için Avrupa Birliği, 2018'de “Döngüsel Ekonomide (CE) Plastikler için Avrupa Stratejisi”ni sunmuştur. Buna göre; AB'de

- 2030 yılına kadar üretilen tüm plastik ambalajlar, yeniden kullanılabilir veya uygun maliyetli bir şekilde geri dönüştürülebilir olmalıdır
- 2030 yılına kadar Avrupa’da üretilen plastiklerin yarısından fazlası geri dönüştürülebilir olmalıdır. Plastik atıkları ayrı toplanmalı ve plastik ambalaj atıklarının geri dönüşüm oranı diğer ambalaj malzemeleriyle karşılaştırılabilir olmalıdır (European Commission, 2018).

Avrupa Parlamentosu ve Birliği’nin Belirli Plastik Ürünlerin Çevre Üzerine Etkilerinin Azaltılması amacıyla çıkardığı 2019/904 sayılı yönetmeliğinde; tek kullanımlık plastiklerin tüketiminin ve piyasaya arzının kısıtlanması amaçlanmıştır. Bu yönetmelikle beraber; 2025 ve 2030 yılından itibaren sırasıyla polietilen tereftalattan üretilen içecek şişelerinin (PET şişeler) en az %25 ve %30’nunun geri dönüştürülmüş plastik içermesi gerektiği bildirilmiştir (Directive EU, 2019/904).

AB, Avrupa Yeşil Mutabakatı 2019/640’ı duyurarak 2050 yılına kadar dünyanın ilk iklim nötr kıtası olmayı hedeflemiştir. AB bu mubakat ile birlikte;

- Temiz, uygun fiyatlı ve güvenli enerji kullanımı,
- Döngüsel ekonomiye geçişin sağlanması,
- Enerji ve kaynakların verimli kullanılması,
- Sürdürülebilir ve akıllı ulaşım araçlarının kullanılması,
- Tarladan sofraya çevre dostu bir gıda tedarik zinciri oluşturulması,
- Ekosistemlerin ve biyoçeşitliliğin korunması,
- Temiz bir çevre için sıfır kirlilik uygulamaları gibi hedeflerini duyurmuştur (European Commission, 2019).

30 Kasım 2022 tarihinde yayınlanan Ambalaj ve Ambalaj Atıklarına İlişkin Düzenleme Önerisinde, kişi başı üretilen ambalaj atığının 2030 yılına kadar %5, 2035 yılına kadar %10 ve 2040 yılına kadar %15 oranında azaltılması gerektiği bildirilmiştir. Ayrıca önerilen düzenlemede, üç litre kapasiteye kadar tek kullanımlık plastik içecek şişeleri için depozito ve iade sistemleri kurulması gerektiği de belirtilmiştir (Legislative Train, 2023).

Avrupa Birliği döngüsel ekonomi kapsamında plastik kullanımının azaltılması, plastik atıkların geri dönüşüm miktarının artırılması amacıyla oldukça önemli yönetmelikler çıkarmış ve bu konu kapsamında gelecek hedeflerini belirtmiştir. Bu sayede Avrupa Birliği’ne aday konumunda olan ülkelerin de bu hedef ve yönetmelikleri benimsemesini sağlamıştır.

## 2.2. Döngüsel Ekonomi Kapsamında Ülkemizde Ambalaj ile İlgili Yönetmelikler

Avrupa Birliği’nin döngüsel ekonomiye geçiş kapsamında aldığı kararlar ve hedefler doğrultusunda Avrupa Birliği aday konumunda olan ülkemizde de atık oluşumu azaltmak ve geri dönüşüm oranını arttırmak amacıyla yönetmelikler ve hedefler ortaya konmuştur.

Çevre ve Şehircilik Bakanlığı tarafından yayınlanan Atık Yönetimi Yönetmeliği’nin amacı atık oluşumunun azaltılması, atıkların geri dönüşümü veya geri kazanımının sağlanması, atık yönetiminin oluşturulması ve tüm bu süreçte çevre ve insan sağlığına zarar vermeden yönetiminin sağlanmasıdır. Yönetmeliğe göre; atıklar bakanlıkça belirlenen esaslara göre kaynağında ayrı toplanacak ve farklı türdeki atıklar diğer atıklarla karıştırılmayacaktır (Atık Yönetimi Yönetmeliği, 2015).

Çevre ve Şehircilik Bakanlığı, 2018 yılında yayınladığı “Plastik Poşetlerin Ücretlendirilmesine İlişkin Usul ve Esaslar” ile birlikte 1 Ocak 2019 yılından itibaren plastik poşetleri ücretlendirmiş ve 2025 yılına kadar kişi başı plastik poşet kullanımının 40 olması hedeflenmiştir (Çevre ve Şehircilik Bakanlığı, 2018).

Çevre ve Şehircilik Bakanlığı tarafından yayınlanan Sıfır Atık Yönetmeliği ile birlikte “hammadde ve doğal kaynakların etkin yönetimi ile sürdürülebilir kalkınma ilkeleri doğrultusunda atık yönetimi süreçlerinde çevre ve insan sağlığının ve tüm kaynakların korunmasını hedefleyen sıfır atık yönetim sisteminin kurulmasına, yaygınlaştırılmasına, geliştirilmesine, izlenmesine, finansmanına, kayıt altına alınarak belgelendirilmesine ilişkin genel ilke ve esasların belirlenmesi” amaçlanmıştır. Yönetmeliğe göre, atıkların karıştırılmadan toplanması ve öncelikle geri dönüşümün sağlanması, eğer geri dönüşüm mümkün değilse bertaraf edilmesi, atıkların ekonomiye kazandırılması yaklaşımının öncelikli tercih edilmesi ve bertaraf edilen atık miktarının azaltılması esastır (Sıfır Atık Yönetmeliği, 2019).

Ticaret Bakanlığı, 2021 yılında Yeşil Mutabakat Eylem Planını sunarak ülkemizin bu eylem planı kapsamında hedeflerinden birinin de yeşil ve dögüsel bir ekonomik anlayış olduğunu belirtmiştir. Bu eylem planı ile birlikte sürdürülebilir ürün politikası kapsamında; ambalaj ve plastiklerin de içinde olduğu dögüsel ekonomiye geçiş hedefleri doğrultusunda mevzuat değişikliklerinin gerçekleştirilmesi amaçlanmaktadır (Ticaret Bakanlığı, 2021).

Ticaret Bakanlığı'nın 2021 yılında yayınladığı “Tek Kullanımlık Plastik Ürünler ile Çözülebilir Plastikten Elde Edilen Ürünlerin Yasaklanmasına Dair Yönetmelik” ile tek kullanımlık plastik ürünlerin azaltılması amaçlanmıştır. Avrupa Birliği'nin tek kullanımlık plastik ürünlerin ithalatının yasaklanması ve ithalat arzının ortadan kalkması sonucu bu sektörde ihracat yapan firmaların tek kullanımlık plastik ürünler yerine metal, tahta, cam, karton vb. alternatif ürünlere yönelmeleri gerektiği yönetmelikte belirtilmiştir (Ticaret Bakanlığı, 2021).

Çevre ve Şehircilik Bakanlığı tarafından yayınlanan Ambalaj Atıkları Kontrolü Yönetmeliği'nin amaçlarından biri de ambalaj atıklarının oluşumunun önlenmesi, önlenemeyen kısmının yeniden kullanımı, geri dönüşüm ve geri kazanım yöntemleri kullanılarak azaltılmasıdır. Bu amaç doğrultusunda geri dönüşüm ve geri kazanım hedefleri belirlenmiş ve 2026 yılı ve daha sonrası için plastik geri dönüşüm hedefi %55 olarak belirtilmiştir (Ambalaj Atıkları Kontrolü Yönetmeliği, 2021).

### 3. DÖNGÜSEL EKONOMİ VE PLASTİK AMBALAJLAR

Dünya'da üretilen plastiklerin çoğu fosil bazlı (petrol bazlı) olmak üzere yenilenemeyen malzemelerden oluşmaktadır. Kaynaklarımızın sınırlı olduğu Dünya'mızda fosil bazlı plastiklerin dögüsel ekonomi kapsamında sürdürülemez olduğu düşünülmektedir. Geri dönüşüme uygun plastikler bile günümüzde hala çöplükler gibi uygunsuz yerlerde depolanmakta veya enerji kazanımı için yakılmaktadırlar. Bu sebeple, plastiklerle ilgili çevre sorunları kara ve deniz kirliliği gibi sorunları da beraberinde getirmektedir (Soares vd., 2022).

Yıllık plastik üretimi, 1950'lerden günümüze kadar yaklaşık 200 kat artmıştır. Plastiklerin, benzersiz mekanik özellikleri nedeniyle kullanımı yaygın olsa da, plastik atıklar geri dönüştürülmediği takdirde bir problem haline gelmektedirler (Maione vd., 2022). 1950'den 2015'e kadar üretilen tüm plastiğin sadece %9'u geri dönüştürülmüş, %12'si yakılmış ve çoğunluğu çöplüklere veya çevreye atılmıştır (Geyer vd, 2017).

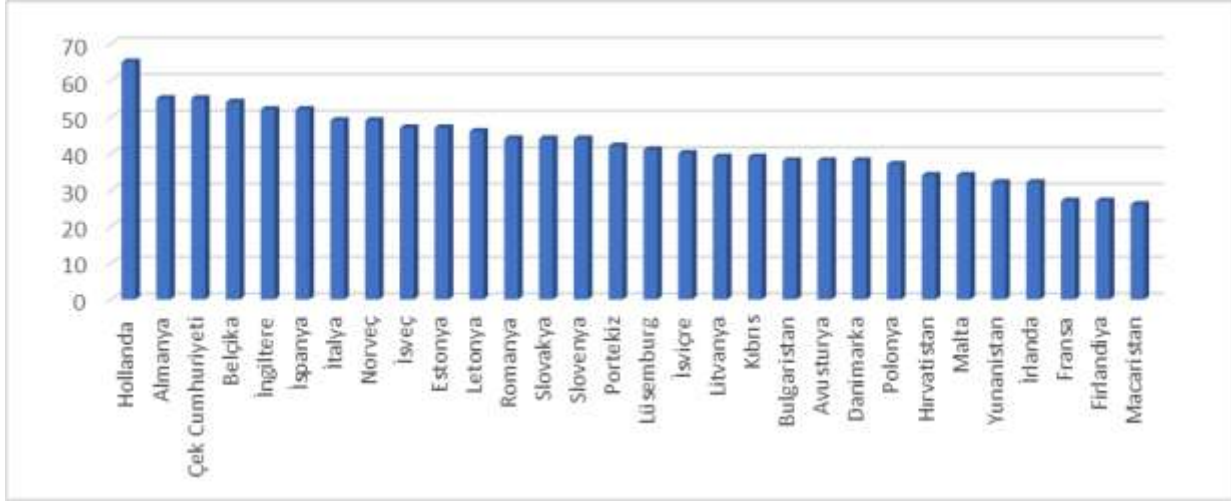
2021 yılında Dünya'da 390,7 milyon ton plastiğin sadece %9,8'i dögüsel ekonomi kapsamında geri dönüştürülmüş veya biyo-bazlı malzemelerden oluşmaktadır ve 2021 yılında üretilen plastik en fazla ambalajlama sektöründe (%44) kullanılmaktadır (Plastics – the Facts, 2022).

Ambalajın amacı, bir ürünü tanıtmak, tüketiciye bilgi vermek ve en önemlisi ambalajlanan ürünü mikroorganizmalara, neme, oksijene veya ışığa karşı korumak, ömrünü uzatmak ve gıda israfını önlemektir (Vadoudi vd., 2022). Ambalaj malzemesi olarak kağıt, cam, metal ve plastik gibi farklı malzemeler kullanılabilir; bunlar arasında plastik ambalajlar, ambalaj atıklarının büyük bir çoğunluğunu oluşturduğundan dolayı dünya ekosistemini tehlikeye atan küresel bir sorun haline gelmiştir (Zhu vd., 2022). Plastik ambalajlar günümüzde bir çevre sorunu, bir atık kaynağı ve iklim değişikliğine katkıda bulunan bir sorun olarak algılanmaktadır. Artan kamuoyu baskısı ve mevcut çevre mevzuatları nedeniyle, koruyucu özelliklerine rağmen plastik ambalajların kullanımını azaltmak ve plastik ambalajların geri dönüştürülebilirliğini artırmak için büyük çaba sarf edilmektedir (Pauer vd., 2020).

Dögüsel ekonomi ve sürdürülebilir kalkınma kapsamında plastik ambalajların geri dönüşümü oldukça önemlidir. Avrupa ülkelerinin 2020 yılı verilerine göre plastik atık geri dönüşüm oranları Tablo 2'de

verilmiştir. Avrupa ülkelerinin 2020 yılı plastik atık geri dönüşüm oranı ortalaması ise %46'dır (Plastics – the Facts, 2022).

**Tablo 2.** Avrupa ülkelerinin 2020 yılı verilerine göre plastik atık geri dönüşüm oranları (Plastics – the Facts, 2022)



Türkiye'de ise 2021 yılında geri dönüştürülen plastik atık ambalaj miktarı sadece %22,4'tür (Geri Dönüştürücüler ve Geri Kazanımcılar Derneği, 2021). Ambalaj atıkları kontrolü yönetmeliğine göre bu geri dönüşüm oranının 2026 yılına kadar %55 olması hedeflenmektedir (Ambalaj Atıkları Kontrolü Yönetmeliği, 2021). Bu hedefe ulaşabilmek için atık miktarı azaltılmalı ve dögüsel ekonomi kapsamında sürdürülebilir ve geri dönüştürülebilir özellikle ambalaj malzemelerinin tercih edilmesi gerekmektedir.

Avrupa Birliği ve ülkemizde yapılan yönetmelik ve mevzuat değişiklikleri ile birlikte ambalajlama sektöründe kullanılan plastik malzemelerin dögüsel ekonomi kapsamında geri dönüştürülebilir olması gerekmektedir. Hedeflenen geri dönüşüm oranlarına ulaşabilmek için; ambalaj atığının azaltılması ve ambalaj malzemesinin geri dönüşüme uygunluğunun sağlanması gerekmektedir. Ambalaj atığı oluşumunun azaltılması; uygun ambalaj tasarımı, ambalaj malzemesinin yeniden kullanılabilir olması ve biyolojik olarak parçanabilen malzemelerinin kullanılması ile sağlanabilir. Ambalaj malzemelerinin geri dönüşüme uygunluğu ise, geri dönüştürülebilir malzemeler veya yüksek oranda geri dönüştürülmüş malzeme içeren ambalaj malzemeleri kullanılarak sağlanabilir (Babader vd., 2016; Czarnecka-Komorowska vd., 2020; Zhu vd., 2022)

Ambalaj atık miktarının azaltılmasını sağlamak amacıyla ambalaj malzemesi seçimi dögüsel ekonomi konseptinin en önemli kısımlarından biridir. Çevre dostu malzemelerin kullanılmasının önemi literatürde ve birçok hükümetin ulusal stratejilerinin yanı sıra kamu medyasında defalarca vurgulanmaktadır. Bu nedenle ambalaj tasarımı yapılırken;

- Ambalaj malzemeleri geri dönüştürülebilir ve sürdürülebilir özellikte olmalı,
- Ambalaj malzemesinin katman sayısı azaltılmalı, çok katmanlı ambalaj yapıları yerine mono yapıda geri dönüşüme uygun ambalaj malzemeleri seçilmeli,
- Yenilenebilir kaynaklardan biyo-bazlı ambalaj malzemeleri kullanılmalı,
- Geri dönüşüm sürecini kolaylaştırmak adına açık renk ambalaj malzemeleri tercih edilmeli,
- Ambalaj malzemesinin ağırlığı azaltılmalı,
- Ambalajın boyutu, şekli yeniden kullanıma veya iade edilebilir depozitolu ambalaj formuna uygun olmalıdır (Azzi vd., 2012; Casarejos vd., 2019; Leissner vd., 2019; Zhu vd., 2022; Lase vd., 2022).

#### 4. DÖNGÜSEL EKONOMİ VE ESNEK AMBALAJLAR

Ambalajlamada kullanılan ambalaj malzemeleri rijit (sert) ya da esnek halde olabilmektedir. Genellikle torba, poşet şeklindeki esnek ambalaj malzemeleri; hafif, elastikiyeti yüksek ve film halinde olurken, kap, bardak, kutu, şişe şeklindeki rijit ambalaj malzemeleri daha kalın, daha ağır ve esnekliği daha az olan ya da hiç olmayan levha halindeki malzemelerdir (Niaounakis, 2019).

Esnek ambalajlar; plastik, kağıt, alüminyum folyo veya bu yapıların herhangi bir kombinasyonu dahil olmak üzere mono yapıda veya çok katmanlı yapıda; düz, baskılı, kaplamalı ve/veya lamine olabilmektedir (CEFLEX, 2020; Lase vd., 2022).

Esnek ambalaj malzemeleri diğer ambalajlara kıyasla;

- Daha az malzeme ve enerji kullanımının olması,
- Ambalaj boyut ve ağırlığının daha düşük olması,
- Düşük maliyetli olması,
- Daha az nakliye ücreti ve nakliye sırasında daha az sera gazı oluşumuna sebep olması
- Daha az atık oluşturması
- Kolay şekil verilebilir ve baskı yapılabilir olması gibi avantajlara sahiptir (Horodytska vd., 2018; Niaounakis, 2019; Lase vd., 2022).

Esnek ambalajlama, dünya çapında en hızlı büyüyen ambalaj sektörü olarak karşımıza çıkmaktadır. Avrupa'daki esnek ambalaj pazarının yıllık 3,7 milyon ton olduğu tahmin edilmektedir. Bunun yaklaşık %70-80'i (3 milyon ton) tek katmanlı mono-polietilen (PE), mono-polipropilen (PP) veya iki katmanlı poliolefin (PE/PP) olarak rapor edilmektedir. Kullanılan esnek ambalajların geri kalan %20-30'u, alüminyum folyo, kağıt, poliamid (PA), polietilen tereftalat (PET), etilen vinil alkol (EVOH) gibi diğer fonksiyonel malzemeleri içeren çok katmanlı ambalaj yapılarını içermektedirler (CEFLEX, 2020; Lase vd., 2022).

Esnek ambalaj malzemeleri birçok olumlu özelliği bulunmasına rağmen genellikle tek kullanımlık olmaları nedeni ile geri dönüştürülmediği takdirde atık miktarının artmasına neden olabilmektedir. Esnek ambalajların geri dönüşüm süreci ise; mekanik geri dönüşüm, kimyasal geri dönüşüm veya enerji geri kazanımı (yakma) ile gerçekleştirilmektedir.

Mekanik geri dönüşüm süreci; ambalaj atıklarının 10 cm gibi bir boyuta getirilmesi ile başlar ve ambalaj atıkları manyetik ayırma, girdap akımı ayırma, kızılötesi (FT-NIR) ayırma, lazer ayırma yöntemleri ile farklı yapılardan ayrılır. 25-40 °C suyla yapılan yıkama işlemi ile ambalaj atıklarından organik kalıntılar, kağıt ve etiket gibi kirleticilerin uzaklaştırılması sağlanır ve bu işlem sırasında atıkların boyutları 1 cm'e kadar küçültülür. Boyut küçültme ve yıkama işleminden sonra yoğunluğa göre ayırma işlemi yapılarak kalan ağır polimerler veya metaller uzaklaştırılır. Bu işlem sırasında poliolefinlerin (PO) yoğunluğu  $<1 \text{ g/cm}^3$  olduğu için işlem sırasında su üzerinde yüzer ve diğer polimerlerden (Polivinilklorür (PVC), Polistiren (PS), PET) ayrılırlar. Ekstrüzyon işleminden önce nemin uzaklaşması için kurutma işlemi gerçekleştirilir ve plastik atıklar eritilerek pelet haline getirilir (Lase vd., 2022; CEFLEX, 2020; Hopewell vd., 2009).

Kimyasal geri dönüşüm süreci; depolimerizasyon ve piroliz süreçleri olarak ikiye ayrılmaktadır. Depolimerizasyon işlemi; polimer oluşumunun ters reaksiyonudur ve kimyasal çözenler yardımı ile (etilen glikol, metilamin, su, metanol vb.) polimerlerin monomerlerine dönüşmesi aşamasıdır (Ragaert vd., 2017; Yan vd., 2023). Örneğin; PET depolimerizasyonunu işlemi için en çok kullanılan yöntem glikoliz işlemidir. Glikoliz, PET'in 180–250 °C aralığındaki sıcaklıklarda glikol ile transesterifikasyonunu içermektedir. Atık PET'in glikoliz süreci oligomerler, dimerler ve monomerler olmak üzere üç aşamadan oluşmaktadır. Glikol polimerin içine difüze olarak polimerin şişmesine ve böylece difüzyonun artmasına neden olur. Glikol daha sonra zincirdeki bir ester bağı ile reaksiyona girer ve PET'i daha düşük fraksiyonlara ayırır (Ragaert vd., 2017; Jeya vd., 2022). Kimyasal geri dönüşüm yöntemlerinden diğeri ise piroliz ve gazlaştırmadır. Piroliz işlemi, depolimerize edilmesi zor olan ve şu anda (mekanik olarak) geri dönüştürülemeyen çöplüklerde atık olarak biriktirilen çok katmanlı ambalaj

yapıları için kullanılan bir yöntemdir. Çok katmanlı ambalaj yapıları mekanik veya depolimerizasyon işlemi ile geri dönüştürülemez ise piroliz yöntemi tercih edilmektedir. Piroliz işlemi, oksijen yokluğunda orta ila yüksek sıcaklıklarda (500 °C, 1-2 atm) gerçekleşmektedir. Bu yöntem, malzeme ve enerji geri kazanımı verimliliği açısından yakmaya kıyasla daha avantajlı bir ileri termokimyasal geri dönüşüm teknolojisidir. PE, PP ve PS gibi yüksek karbon içeriğine sahip plastik ambalajlar piroliz için tercih edilen plastik ambalaj atıklarıdır (Ragaert vd., 2017; Solis vd., 2020; Ahamed vd, 2021).

Enerji geri kazanımı yakma süreci; atıkların düzenli olarak çöplüklerde biriktirilmesi (depolanması) ve yakılmasıdır (Ahamed vd, 2021). Mekanik ve kimyasal geri dönüşümün mümkün olmadığı çok katmanlı esnek ambalaj yapılarının bertarafı için yakma yöntemi sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak; He ve ark. (2019) yapmış olduğu bir çalışmada, atıkların depolanması sırasında oluşan sızıntı suyunda, 17 farklı plastik türü tanımlanmış ve mikro-plastik konsantrasyonunun 0,42-24,58 partikül/L arasında ve 100–1000 µm boyutunda olduğu belirtilmiştir. Atıkların çöplüklerde biriktirilmesinden kaynaklı oluşan bu suyun yer altı kaynaklarına sızması riski de oluşabilmektedir. Ayrıca, Zheng ve ark. (2019) yılında yapmış olduğu bir başka çalışmada atıkların yakılması işleminin geri dönüşüme göre daha yüksek miktarda sera gazı emisyonuna neden olduğu belirtilmiştir. Bu sebeple atıkların çöplüklerde biriktirilmesi ve yakılması döngüsel ekonomi kapsamında sürdürülebilir bir atık yönetimi değildir.

**Tablo 3.** Geri dönüştürülebilir ve geri dönüştürülemeyen esnek ambalaj yapıları (CEFLEX, 2020)

Ambalaj malzemesi	Açıklama
Mono-PE ve mono-PP yapıları (yapısında en az %90 PE veya PP bulunan tek katmanlı ambalaj yapıları)	Geri dönüştürülebilir
PE/PE ve PP/PP ambalaj yapıları (yapısında en az %90 PE veya PP bulunmalıdır)	Geri dönüştürülebilir
PE/PP (PO) ambalaj yapıları (yapısında en az %90 PO malzemesi bulunmalıdır)	Geri dönüştürülebilir
Kaplamalı ve katmanlı PE ve PP yapılar (EVOH, PVOH (Polivinil alkol), Akrilik, SiO <sub>x</sub> (Silikon kaplama) ve AlO <sub>x</sub> (Alüminyum kaplama) gibi, yapısında en fazla %5 oranında bulunabilir)	Geri dönüştürülebilir
PET ambalaj yapıları örn. PET/PE, metalize PET/PE, PET/PP vb.	Katmanları oluşturan ambalaj yapılarının farklı fiziksel-kimyasal özelliklere sahip olmaları ve birbirleriyle homojen olarak karışmalarını çok katmanlı esnek ambalaj yapılarının geri dönüşüm sürecini zorlaştırmaktadır. Bu malzemelerin geri dönüştürülmesi ambalaj yapısının bileşenlerinin mekanik özelliklerini kaybetmesine neden olmaktadır. Bu durum çok katmanlı esnek ambalajların geri dönüşümünü ekonomik ve teknik olarak zor hale getirmektedir (Berkane vd., 2023).
PA (Poliamid) ambalaj yapıları örn. PA/PE vb.	
PE/PP (PO) (yapısında %80'den daha az PO malzemesi bulunması)	
Diğer çok katmanlı plastik ambalaj yapıları	

Tablo 3'te de görüldüğü gibi mono yapıdaki esnek ambalajlar, çok katmanlı esnek ambalajlara göre daha homojen yapıda oldukları için geri dönüşümleri teknik olarak mümkündür. Çok katmanlı esnek ambalajlar ise plastik, kağıt veya metal gibi farklı yapıdaki malzemelerden veya bunların farklı kombinasyonlarından oluşabilmektedirler. Bu malzemelerin farklı fiziksel-kimyasal özelliklere sahip olmaları ve birbirleriyle karışmalarını geri dönüşüm sürecini zorlaştırmaktadır. Bu malzemelerin geri dönüştürülmesi malzemelerin teknik özelliklerini kaybetmesine neden olmaktadır ve bu durum çok katmanlı esnek ambalajların geri dönüşümünü ekonomik ve teknik olarak zor hale getirmektedir (Soares vd, 2022; Berkane vd., 2023).

Çok katmanlı plastik ambalaj atıklarından geri dönüştürülmüş plastik üretmenin en büyük zorluğu, farklı polimer yapılarının moleküler düzeyde birbiri ile karışmaması ve işleme gereksinimlerindeki

farklılıklardır. Çok katmanlı plastik ambalajlardaki polimerler farklı erime ve işleme sıcaklıklarına sahiptirler ve bu ambalaj yapıları geri dönüştürülürken çoğunlukla en yüksek erime noktasına sahip polimerin işleme sıcaklığı kullanılmaktadır. Bu durum da daha düşük erime noktasına sahip olan polimerin aşırı ısınmasına ve bozunmasına yol açarak, özelliklerini kaybetmesine neden olmaktadır. Örneğin, bir PET geri dönüşüm akışında bulunan az miktarda PVC, PET'i eritmek ve yeniden işlemek için gereken daha yüksek bir sıcaklıkta PVC'den hidroklorik asit gazının çıkması nedeniyle geri dönüştürülmüş PET ambalaj malzemesinin kalite özelliklerini olumsuz etkileyecektir. Tersine, bir PVC geri dönüşüm akışındaki PET, geri dönüştürülmüş malzemenin kalitesini önemli ölçüde azaltan katı, dağılmamış kristal PET yığınları oluşturacaktır. (Hopewell vd., 2009; Ragaert vd., 2017; Faraca vd., 2019). Bu nedenle günümüzde çok katmanlı ambalaj yapılarının geri dönüştürülmesi endüstriyel olarak hala mümkün değildir.

Esnek ambalaj malzemeleri çeşitli şekillerde geri dönüştürülebilirler ancak mono yapıda ambalaj malzemelerinin geri dönüştürülmesi, çok katmanlı ambalaj malzemelerine göre daha kolay ve çok daha ekonomiktir (Hopewell vd., 2009). Günümüzde kullanılan mevcut geri dönüşüm teknolojilerinin çok katmanlı ambalaj malzemelerini oluşturan farklı katmanları tanımlayamaması, seçememesi ve kolayca ayıramaması esnek ambalaj yapılarının geri dönüşümünü zorlaştırmaktadır. Bu sebeple çok katmanlı esnek ambalajların bertarafı için bu atıkların yakılarak enerji geri kazanımı yolu kullanılmakta, bu durum da sürdürülebilirliği ve dögüsel ekonomiye geçişi engellemektedir (Horodytska vd., 2018; Costamagna vd., 2023). Dögüsel ekonomi kapsamında geri dönüştürülemeyen çok katmanlı esnek ambalaj yapılarının kullanımının azaltılması gerekmektedir. Geri dönüştürülemeyen bu ambalaj atıkları çevresel sorunlara, kaynaklarımızın kirlenmesine neden olmakta ve Avrupa Birliği'nin 2030 yılına kadar tüm plastik ambalajları geri dönüştürme hedefiyle de çelişmektedir (Soares vd., 2022; Vadoudi vd., 2022).

## 5. SONUÇ

Plastik atıklar geri dönüştürülmediği takdirde çevre kirliliğini olumsuz etkileyen bir problem ve küresel bir sorun haline gelmektedir. Ambalaj sektörü de dahil olmak üzere birçok endüstriyel sektörde plastik kullanımının artması oluşan atık miktarını da arttırmaktadır. Plastik atık miktarını azaltmak için ilk olarak tek kullanımlık plastik ambalaj üretimi ve tüketiminin azaltılması gerekmektedir. Plastik ambalaj atıklarının geri dönüşümü, yeniden kazanımı her zaman ilk öncelik olmalıdır. Plastik ambalajların yeniden kazanımı amacıyla tekrar kullanılabilen, doldurulabilen veya depozitolu ambalaj malzemeleri kullanılmalı ve hükümetler izledikleri politikalar ile bu süreci desteklemelidirler.

Plastik ambalaj sektöründe her geçen gün büyüyen bir paya sahip esnek ambalajlar, mono veya çok katmanlı yapıda olabilmektedirler. Mono yapıda olan esnek ambalaj atıklarının geri dönüşüm süreci homojen yapıda oldukları için daha kolay ve çok daha ekonomiktir. Bu nedenle, dögüsel ekonomi kapsamında piyasada kullanılan esnek ambalaj yapılarının katman sayısı azaltılmalı ve bu konuda daha fazla çalışma ve araştırma yapılmalıdır. Çok katmanlı esnek ambalaj yapılarıyla ilgili daha verimli, teknik ve ekonomik anlamda uygulanabilir geri dönüşüm teknolojileri araştırılmalıdır. Hükümetler ve ilgili bakanlıklar, geri dönüşüm firmalarının kurulması için teşvik etmeli ve gerekli ekonomik desteği vermelidir.

Plastik ambalaj geri dönüşüm oranımızın 2026 hedefimiz olan %55'e ulaşması için ambalaj atıklarının çöp alanlarında depolanması engellenmeli ve plastik ambalaj atıkları kaynağında evsel çöp atıklarından ayrılmalıdır. Dögüsel ekonomiye geçiş sürecinin daha etkili olabilmesi adına sadece plastik ambalaj atıkları için değil tüm ambalaj atıklarının geri dönüşüm, yeniden kazanım süreci ilk öncelik olarak benimsenmelidir.

## 6. KAYNAKÇA

Ahamed, A. Veksha, A. Giannis, A. ve Lisak, G. 2021. Flexible packaging plastic waste – environmental implications, management solutions, and the way forward, Current Opinion in Chemical Engineering, Volume 32, 100684.

Ambalaj Atıklarının Kontrolü Yönetmeliği. (2021, 26 Haziran). Resmi Gazete (Sayı: 29314). Erişim adresi: <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2021/06/20210626-18.htm>.



Atık Yönetimi Yönetmeliği. (2015, 2 Nisan). Resmi Gazete (Sayı: 29314). Erişim adresi: <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2015/04/20150402-2.htm>.

Azzi, A. Battini, D. Persona, A. ve Sgarbossa, F. 2012. Packaging Design: General Framework and Research Agenda, Packaging Technology And Science, 25, 435–456.

Babader, A. Ren, J. O. Jones, K. ve Wang, J. 2016. A system dynamics approach for enhancing social behaviours regarding the reuse of packaging, Expert Systems with Applications, 46, 417-425.

Berkane, I, Cabanes, A. Horodytska, O. Aracil, I. ve Fullana, A. 2023. The delamination of metalized multilayer flexible packaging using a microperforation technique, Resources, Conservation and Recycling, Volume 189, 106744.

Casarejos, F. R. Bastos, C. Rufin, C. ve N. Frota, M. 2018. Rethinking packaging production and consumption vis-à-vis circular economy: A case study of compostable cassava starch-based material, Journal of Cleaner Production, 201, 1019-1028.

CEFLEX, 2020. Designing for a Circular Economy, Recyclability of polyolefin-based flexible packaging, June 2020, Phase 1.

Communication From The Commission The European Green Deal. (2019, 11 Aralık). Erişim adresi: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=COM%3A2019%3A640%3AFIN>.

Costamagna, M. Massaccesi, B. M. Mazzucco, D. Baricco, M. ve Rizzi, P. 2023. Environmental assessment of the recycling process for polyamides - Polyethylene multilayer packaging films, Sustainable Materials and Technologies, 35, e00562.

Czarnecka-Komorowska ve D. Wiszumirska, K. 2020. Sustainable design of plastic packaging plastic packaging in circular economy, Polimery 2020, 65, nr 1.

Directive (EU) 2008/98 Of The European Parliament And Of The Council. On waste and repealing certain Directives. (2008, 19 Kasım). Erişim adresi: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32008L0098&qid=1676373566560>.

Directive (EU) 2018/851 Of The European Parliament And Of The Council. Amending Directive 2008/98/EC On Waste. (2018, 14 Haziran). Erişim adresi: [https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=uriserv:OJ.L\\_.2018.150.01.0109.01.ENG](https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=uriserv:OJ.L_.2018.150.01.0109.01.ENG).

Directive (EU) 2018/852 Of The European Parliament And Of The Council. Amending Directive 94/62/EC On Packaging And Packaging Waste. (2018, 30 Mayıs). Erişim adresi: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex%3A32018L0852>.

Directive (EU) 2019/904 Of The European Parliament And Of The Council. On The Reduction Of The Impact Of Certain Plastic Products On The Environment. (2019, 12 Haziran). Erişim adresi: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32019L0904&qid=1674045486417>.

Directive (EU) 2022/94/62 Revision of Directive 94/62/EC on packaging and packaging waste. (2022, Aralık) Erişim adresi: [https://www.europarl.europa.eu/RegData/etudes/BRIE/2022/734698/EPRS\\_BRIE\\_734698\\_Revision\\_Directive\\_Packaging.pdf](https://www.europarl.europa.eu/RegData/etudes/BRIE/2022/734698/EPRS_BRIE_734698_Revision_Directive_Packaging.pdf).

Döngüsel Ekonomi Platformu. 2022. <https://donguselekonmiplatformu.com/hakimizda.html>, Ocak 2023.

Erdiaw-Kwasie, M. Abunyewah, M. Yusif, S. ve Erdiaw-Kwasie A. 2023. Does circular economy knowledge matter in sustainable service provision? A moderation analysis, Journal of Cleaner Production, 383, 135429.

European Commission. Communication From The Commission To The European Parliament, The Council, The European Economic And Social Committee And The Committee Of The Regions. A European Strategy for Plastics in a Circular Economy. 2018. <https://ec.europa.eu/environment/circular-economy/pdf/plastics-strategy.pdf>, Ocak 2023.

- Faraca, G. ve Astrup, T. 2019. Plastic waste from recycling centres: Characterisation recyclability, *Waste Management*, 95, 388-398.
- Geri Dönüşümcüler ve Geri Kazanımcılar Derneği. 2021. <https://www.aa.com.tr/tr/cevre/turkiye-her-yil-1-1-milyon-ton-plastik-atigi-geri-donusturuyor/2427166> , Aralık 2022.
- Geyer, R. Jambeck, J. R. ve Law, K. L. 2017. Production, use, and fate of all plastics ever made, *Science Advances*, Vol 3, Issue 7.
- He, P. Chen, L. Shao, L. Zhang, H. ve Lü, F. 2019. Municipal solid waste (MSW) landfill: A source of microplastics? -Evidence of microplastics in landfill leachate, *Water Research*, Volume 159, Pages 38-45.
- Hopewell, J. Dvorak, R. ve Kosior, E. 2009. Plastics recycling: challenges and opportunities, *Philosophical Transactions of The Royal Society B*, 64, 2115–2126.
- Horodytska, O. Valdes, F.J. ve Fullana, A. 2018. Plastic flexible films waste management – A state of art review, *Waste Management*, 77, 413-425.
- Jeya, G. Dhanalakshmi, R. Anbarasu, M. Vinitha, V. ve Sivamurugan, V. 2022. A short review on latest developments in catalytic depolymerization of Poly (ethylene terephthalate) wastes, *Journal of the Indian Chemical Society*, 99, 100291.
- Khajuria, A. Atienza, V.A. Chavanich, S. Henning, W. Islam, I. Kral, U. Liu, M. Liu, X. Murthy, I.K. Oyedotun, T.D.T. Verma, P. Xu, G. Zeng, X. Ve Li, J. 2022. Accelerating circular economy solutions to achieve the 2030 agenda for sustainable development goals, *Circular Economy*, Volume 1, Issue 1, 100001.
- Lase, I. S. Bashirgonbadi, A. ,van Rhijn, F. Dewulf, J. Ragaert, K. Delva, L. Roosen, M. Brandsma, M. Langen, M. ve De Meester, S. 2022. Material flow analysis and recycling performance of an improved mechanical recycling process for post-consumer flexible plastics, *Waste Management*, 153, 249-263.
- Legislative Train. European Parliament. 2023. Revision of Directive 94/62/EC on Packaging and Packaging Waste (REFIT) In “A European Green Deal”, Erişim adresi: [https://www.europarl.europa.eu/legislative-train/theme-a-european-green-deal/file-revision-of-packaging-and-packaging-waste-directive-\(refit\)](https://www.europarl.europa.eu/legislative-train/theme-a-european-green-deal/file-revision-of-packaging-and-packaging-waste-directive-(refit)).
- Leissner, S. ve Ryan-Fogarty, Y. 2019. Challenges and opportunities for reduction of single use plastics in healthcare: A case study of single use infant formula bottles in two Irish maternity hospitals, *Resources, Conservation and Recycling*, 151, 104462.
- Maione, C. Lapko, Y. ve Trucco, P. 2022. Towards a circular economy for the plastic packaging sector: Insights from the Italian case, *Sustainable Production and Consumption*, Volume 34, Pages 78-89.
- Morseletto, P. 2020. Targets for a circular economy, *Resources, Conservation and Recycling*, 153, 104553.
- Niaounakis, M. 2019. *Recycling of Flexible Plastic Packaging*. William Andrew. Oxford. 395.
- Niero, M. Hauschild, M. Z. Hoffmeyer, S.B. ve Olsen, S. I. 2017. Combining Eco-Efficiency and Eco-Effectiveness for Continuous Loop Beverage Packaging Systems, *Journal of Industrial Ecology*, 21(3), 742-753.
- Pauer, E. Tacker, M. Gabriel, V. ve Krauter, V. 2020. Sustainability of flexible multilayer packaging: Environmental impacts and recyclability of packaging for bacon in block, *Cleaner Environmental Systems*, Volume 1, 100001.
- Plastics Europe Enabling a sustainable future. *Plastics –the Facts*, 2022.
- Plastik Poşetlerin Ücretlendirilmesine İlişkin Usul ve Esaslar. (2018, 29 Kasım). (Sayı: 66745475-145.07-6267). Erişim adresi: <https://webdosya.csb.gov.tr/db/cygm/icerikler/plasposetuerev20190109-20190109144024.pdf>.

- Ragaert, K. Delva, L. ve Van Geem, K. 2017. Mechanical and chemical recycling of solid plastic waste, *Waste Management*, 69, 24-58.
- Sıfır Atık Yönetmeliği. (2019, 12 Temmuz). Resmi Gazete (Sayı:30829). Erişim adresi: <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2019/07/20190712-9.htm>.
- Sillanpaa, M. ve Ncibi, C. 2019. The Circular Economy, Case Studies about the Transition from the Linear Economy, Department of Green Chemistry, LUT University, Finland.
- Soares, C.T.M. Ek, M. Östmark, E. Gallstedt, M. Ve Karlsson, S. 2022. Recycling of multi-material multilayer plastic packaging: Current trends and future scenarios, *Resources, Conservation and Recycling*, Volume 176, 105905.
- Solis, M. ve Silveira, S. 2020. Technologies for chemical recycling of household plastics – A technical review and TRL assessment, *Waste Management*, 105, 128-138.
- Stahel, W. R. 2016. The circular economy, *Nature*, 531, 435–438.
- T.C. Ticaret Bakanlığı. 2021, Yeşil Mutabakat Eylem Planı 2021, <https://ticaret.gov.tr/data/60f1200013b876eb28421b23/MUTABAKAT%20YEŞİL.pdf>, Ocak 2023.
- Tek Kullanımlık Plastik Ürünler İle Çözülebilir Plastikten Elde Edilen Ürünlerin Yasaklanmasına Dair Yönetmelik. (2021, 3 Şubat). T.C. Ticaret Bakanlığı (Sayı: E-45811956-452.02-00061034855). Erişim adresi: [https://fatsatso.org.tr/dlib/0\\_77522200\\_1614691181.pdf](https://fatsatso.org.tr/dlib/0_77522200_1614691181.pdf).
- The Plastic Bags Directive (Directive (EU) 2015/720). 2015. Erişim adresi: [https://environment.ec.europa.eu/topics/plastics/plastic-bags\\_en](https://environment.ec.europa.eu/topics/plastics/plastic-bags_en).
- Türkmen, A.M. ve Kılıç, F. 2020. Sürdürülebilir Kalkınma Anlayışına Yönelik Döngüsel Ekonomi Modeli, *Üçüncü Sektör Sosyal Ekonomi Dergisi*, 55(4) 2020, 2538-2556.
- Vadoudi, K. Deckers, P. Demuytere, C. Askanian, H. ve Verney, V. 2022. Comparing a material circularity indicator to life cycle assessment: The case of a three-layer plastic packaging, *Sustainable Production and Consumption*, 33, 820-830.
- Wang, G. ve Cote, R. 2011. Integrating eco-efficiency and eco-effectiveness into the design of sustainable industrial systems in China, *International Journal of Sustainable Development & World Ecology*, 18(1), 65–77.
- Woźniak, J. and Pactwa, K., 2018. Overview of Polish Mining Wastes with Circular Economy Model and Its Comparison with Other Wastes, *Sustainability*, 10, 3994.
- Yan, M. Yang, Y. Shen, T. Grisdanurak, N. Pariatamby, A. Khalid, M. Hantoko, D. ve Wibowo, H. 2023. Effect of operating parameters on monomer production from depolymerization of waste polyethylene terephthalate in supercritical ethanol, *Process Safety and Environmental Protection*, 212-219.
- Zheng, J. ve Suh, S. 2019. Strategies to reduce the global carbon footprint of plastics, *Nature Climate Change*, Vol 9, 374–378.
- Zhu, Z. Liu, W. Ye, S. ve Batista, L. 2022. Packaging design for the circular economy: A systematic review, *Sustainable Production and Consumption*, 32, 817-832.

**ADVANCES IN MILK-BASED SEROLOGICAL TECHNIQUES FOR THE SCREENING OF  
BOVINE BRUCELLOSIS**

**SIĞIR BRUSELLOZUNUN TAKİBİNDE SÜT BAZLI SEROLOJİK TEKNİKLERDEKİ  
GELİŞMELER**

***Muhammad Shahbaz SHARIF***

*Ondokuz Mayıs University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Microbiology, Samsun,  
Türkiye*

*ORCID ID: 0000-0003-4002-7737*

***Evrin GENÇ***

*Ondokuz Mayıs University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Microbiology, Samsun,  
Türkiye*

*ORCID ID: 0000-0002-6405-6076*

***Özlem BÜYÜKTANIR YAŞ***

*Ondokuz Mayıs University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Microbiology, Samsun,  
Türkiye*

*ORCID ID: 0000-0002-7641-7350*

***Oktay GENÇ***

*Ondokuz Mayıs University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Microbiology, Samsun,  
Türkiye*

*ORCID ID: 0000-0003-0777-6824*

**ABSTRACT**

Brucellosis is regarded as one of the most important zoonoses globally, resulting in a significant socioeconomic impact on human health and reducing the productivity and hence profitability of livestock industries. Milk tests are preferred to blood tests with their practical, inexpensive, and non-invasive features. The development and validation of sensitive, specific, and affordable milk tests are very crucial in low- and middle-income countries for the detection of brucellosis in individual milk samples as well as bulk tank milk samples. We aim to inform the countries with endemic brucellosis problems about the serological tests used for the detection of antibodies in milk. Bulk milk tests are the most practical and the most preferred choice to survey the infection status of the herd for brucellosis detection. However, there are limited officially approved serological tests available for milk samples. These tests are the milk ring test, FPA, and different ELISAs. Also, some serological agglutination tests such as whey agglutination and antiglobulin Coombs' test are used, but they are not officially approved. Most of the antigens used in these serological tests are the same as that of blood tests and it is not possible to differentiate the animals vaccinated or infected with the antigens available. As milk contains fewer antibodies than blood sera, using lower milk dilution ( $\leq 1:10$ ) is preferred instead of 1:50 or 1:100 compared to blood sera. This lower concentration should be taken into account when testing and evaluating the results. At the same time, fat globules and the cellular moiety of milk constrain the use of milk in rapid test formats and some ELISAs. Therefore, milk processing techniques such as filtration, centrifugation, and precipitation are applied in different ELISAs and rapid membrane-based tests. In this way, immunochromatographic lateral flow tests and NERIFA known as rapid immunofiltration assay has now been started to be used for brucellosis detection. Although limited studies with these test formats are available, It is obvious that field studies should be done. Regardless of the methods used for

testing milk, when a positive result was found in tank milk samples, individual milk samples needed to be examined and analyzed in parallel to blood tests.

**Keywords:** bovine brucellosis, ELISA, milk serology, rapid serological tests

## 1. INTRODUCTION

Brucellosis is one of the seven neglected prevalent zoonotic diseases of worldwide distribution affecting animals and human beings. It is a costly, highly contagious disease that affects many cattle. The disease is usually manifested by abortion, retention of the placenta, stillbirth, infertility, and a decrease in milk production with the scattering of the organism in uterine discharges and milk (Franc et al., 2018)

Although there is a long list of brucellosis diagnostic tests and candidates for immunological detection from blood sera and milk, some parameters with the test of choice and epidemiological context at the period of which specimens collected affect the test preference (Ducrotoy et al., 2016, 2018). Tests must be selected not only based on their diagnostic sensitivity and specificity but also taking into account their suitability for use in a given geographical, epidemiological, and socioeconomic context whether the goal is control or elimination (Ducrotoy et al., 2018). Because of this, several investigations are carried out to solve the logistical problems of surveillance in developed and underdeveloped countries.

The purpose of this review is to summarize the current knowledge on the serological confirmation of bovine brucellosis in milk samples, including the different tests available, their strengths and limitations, and their diagnostic performance.

## 2. DIAGNOSTIC PARAMETERS FOR SEROLOGICAL TESTS

The ability of a test to accurately diagnose brucellosis relies on its sensitivity (DSe) and specificity (DSp), which are established using a sufficient number of both infected and non-infected gold standard sera, and it can be difficult in some cases if there are no gold standard sera available (Jacobson., 1996). The accuracy of quantitative tests for brucellosis diagnosis, such as sensitivity and specificity, is influenced by the cut-off value used. Using the mean plus two or three standard deviations of negative samples (Delgado et al., 1995; Heck et al., 1980; Saini et al., 2017; Uzal et al., 1995) as the cut-off is not appropriate as the distribution of test values is skewed. The Receiver Operating Characteristic (ROC) method, which plots sensitivity versus specificity for all cut-off values, is useful for determining the optimal cut-off. Since in general DSe increases as DSp decreases and vice versa, the ROC method (based on plotting DSe versus DSp for all cut-off values) is invaluable for DSe/DSp assessment. In brucellosis control and eradication programs, tests should prioritize high specificity (100%) over high sensitivity. This is because in most cases, the disease is in endemic equilibrium and transmission is relatively low, especially with interventions such as testing and culling or vaccination. Tests should also be interpreted on a herd/flock basis and repeated frequently to facilitate the early detection of infected animals (Greiner et al., 2000; Ducrotoy et al., 2018).

## 3. DIAGNOSTIC TESTS

Various serological tests such as the Rose Bengal Plate Test (RBPT), Complement Fixation Test (CFT), and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) are employed in the diagnosis of brucellosis. However, these tests have varying degrees of sensitivity and specificity. Given the economic impact of brucellosis, it is crucial to use sensitive and efficient diagnostic methods. The accuracy of the serological tests employed has a significant influence on the success of a screening program. For analyzing milk samples, the Milk Ring Test (MRT) and Indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (iELISA) are officially accepted for screening and epidemiological surveillance of brucellosis in dairy herds. Tests for detecting *Brucella* antibodies in bulk milk tanks from milk rooms are considered the primary methods for identifying infected herds. There are numerous reports of screening and diagnosis of brucellosis in organized dairy herds using the MRT, which is simple to perform and serves as an alternative to serum or milk-based ELISA (Al-Mariri et al., 2011; Shome et al., 2015)

**Table 1.** Characteristics of the main brucellosis serological tests that detect antibodies triggered by Brucella S-LPS (Ducrotoy et al., 2018).

Test	Antigen	Relevant epitopes
Serum agglutination in tube (SAT), SAT-mercaptoethanol, and Rivanol tests	S-Brucella cells	C
Buffered Brucella antigen tests (Rose Bengal test [RBT], Card and buffered plate agglutination test [BPAT])	S-Brucella cells	C
Complement fixation test (CFT)	S-Brucella cells	C
Reverse radial (RID) or double gel (DGD) immunodiffusion	NH	C
Indirect ELISAs (iELISAs)	S-LPS	C and core
Competitive ELISAs (cELISAs)	OPS-core S-LPS	C and core
Lateral flow immunochromatography (LFic)	OPS-core S-LPS	C and core
Fluorescence polarization assay (FPA).	OPS-core	C and core

Antigens of main brucellosis serological tests are illustrated in Table 1. Most of the antigens come from S Brucella and relevant epitopes of S-LPS are C and core. LPS, OPS core work with ELISAs, FPA, and Lateral flow immunochromatography. Native hapten antigen is used in immunoprecipitation tests and is highly specific to S-Brucella. Other Brucella cell antigen is relevant to agglutination tests and CFT.

There are various tests available to detect antibodies against *B. abortus* in cattle serum. However, using milk samples as an alternative to serum samples has gained popularity in some countries. The benefits of using milk samples include non-invasive sampling, which reduces the risk of disease transmission through needles and stress-induced loss of production (Vanzini et al., 1998).

The Milk Ring Test (MRT) was developed by Fleischer in 1937. He proposed using the test as a screening method for detecting antibodies against Brucella species in milk. The test is based on the detection of IgM and IgA immunoglobulins in bulk tank milk (Ali et al., 2015). The MRT is based on the principle that antibodies to *B. abortus* bind to fat globules which rise to the surface of the milk, cluster in the cream layer, and react with tetrazolium/hematoxylin-stained *B. abortus* antigen to form a ring in the creamy layer of milk (Shome et al., 2015).

The Milk Ring Test (MRT) is a useful tool for diagnosing bovine brucellosis in both individual animals and pooled milk samples. However, it is important to note that the test may produce false-positive reactions in S19 cattle vaccinated less than 4 months before testing, in samples containing colostrum, and in cases of mastitis (Rahman et al., 2020). Additionally, abnormal milk with low concentrations of lacteal antibodies or lacking fat clustering may also lead to false-positive results. It is not sensitive enough in individual animals and its main interest is to determine the infection status of dairy herds in bulk milk, where it has been reported to identify 88% of the herds (Ducrotoy et al., 2018). Despite these limitations, the MRT is a highly successful, cost-effective, and widely used screening test for bovine brucellosis in dairy herds, being the subjective method of choice (Rahman et al., 2020).

The milk-ELISA or i-ELISA test for brucellosis was found to be a viable alternative to the serum-ELISA test, and it was also found to be more sensitive than the MRT test (Bertu et al., 2010). A study conducted by Adil M. A. Salman, (2012) study, to compare various serological tests and estimate the prevalence of bovine brucellosis in Khartoum State of Sudan by testing 636 milk samples collected from farms and markets. The samples were tested using the milk ring test (MRT), Rose Bengal plate test (RBPT), and

indirect ELISA test on milk and serum. The results showed that the prevalence of Brucella antibodies was higher in milk samples than in serum samples. The milk ELISA test had a 34.7% prevalence rate, followed by the MRT at 32.5%, while the RBPT had a 27% prevalence rate when using serum samples and 24.4% when using serum-ELISA. The MRT had a sensitivity and specificity of 85% and 95%, respectively, and the RBPT had a sensitivity and specificity of 92% and 94%. There was a strong association between the MRT and milk-ELISA ( $p < 0.01$ ) and between the RBPT and serum-ELISA ( $p < 0.05$ ). The percentage agreement between the MRT and milk-ELISA was 83% Kappa ( $p < 0.01$ ) and between the RBPT and serum-ELISA was 86% Kappa ( $p < 0.01$ ). The milk-ELISA test had a 92.8% sensitivity, 98.8% specificity, and 79% Kappa agreement when compared to the serum-ELISA test. The author concluded that the milk-ELISA test is an easy and effective method for detecting brucellosis compared to other serological tests. In another study designed by Al-azeem & Ibrahim, (2010) to compare the diagnostic performance of various methods, including milk-ELISA, serum-ELISA, RBPT, SAT, and MRT, lactating ewes were tested for brucellosis. The sensitivity and positive predictive value of the tests were found to be 94.39% and 90.99%, respectively. The results suggest that the milk-ELISA test is an attractive alternative to the serum-ELISA test for diagnosing brucellosis in lactating ewes. Overall, the study shows that brucellosis is prevalent in the studied sheep flock and the used diagnostic methods have high accuracy in detecting the disease (Al-azeem & Ibrahim., 2010).

A recent study conducted in Dhamar Governorate, Yemen by Al-Afifi et al., (2022) aimed to determine the prevalence of Brucella in field animal milk. A total of 808 raw milk samples from non-aborted field animals from aborted animals and pasteurized milk samples were analyzed using various methods, including the Milk-Ring Test (MRT), milk-ELISA test, and isolation and identification of Brucella species, as well as antibiotic susceptibility testing. Results of this study indicated that the prevalence of Brucella in milk samples from field animals was relatively low, with 0.8% in cow's milk, 2.6% in sheep's milk, and 2% in goat's milk according to the MRT. The milk-ELISA test yielded similar results, with 0.8%, 1.3%, and 1.6% prevalence in cow's, sheep's, and goat's milk respectively. However, the prevalence rate in milk samples from aborted animals was much higher, with 33%, 64%, and 41.2% according to the MRT, and 39%, 49%, and 41.2% according to the milk-ELISA test. All pasteurized milk samples were found to be negative for Brucella. Overall, the study suggested that the prevalence of Brucella in field animal milk in Dhamar Governorate, Yemen was relatively low but significantly higher in milk samples from aborted animals. These findings may have important implications for the safety of milk consumed in the region.

In conclusion, ELISA is a widely used and highly sensitive method for the serological confirmation of bovine brucellosis in milk samples. Several studies have shown that ELISA, particularly the c-ELISA, has a high diagnostic performance with a sensitivity and specificity of over 95%. These studies suggest that ELISA should be considered as a preferred method for the diagnosis of bovine brucellosis in milk samples.

In recent years, rapid lateral flow immunochromatographic tests have been developed and tested for the screening and monitoring of brucellosis in both animals and humans. These tests have similar accuracy to ELISA systems but do not require highly skilled personnel, specialized materials, or costly reagents. They are a practical alternative for low-income countries and remote populations where effective diagnosis and control of the disease in cattle can be achieved at the herd level (Geresu and Kassa, 2016; OIE, 2016; Quintero et al., 2018; Genç et al, 2022;).

#### 4. CONCLUSION

The most reliable method for diagnosing brucellosis is the isolation of Brucella spp. through culture methods from milk and other contaminated materials. However, this direct diagnostic test can be impractical when testing large numbers of cattle, and indirect tests such as the detection of antibodies in serum or milk are commonly used to screen for infected cattle. The milk ring test is widely used for screening brucellosis in dairy cattle in bulk milk samples, although it has been criticized for its DSe/DSp in different epidemiological contexts. Proper adjustment of the DSe/DSp of any complementary test is critically important in different brucellosis control programs. Alternatives such as the competitive ELISA (c-ELISA) and Fluorescence Polarization Assay (FPA) are more sensitive and specific but require specialized equipment and trained personnel. To increase the test specificity, several indirect

enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs) and FPA have been developed and tested on milk and whey samples. Recently, immunochromatographic Lateral Flow and immunofixation-based mNERIFA have been proposed for brucellosis detection in whey samples as rapid tests. Similar performances of these tests along with the ELISAs make them alternatives for milk testing. However, they need to be validated in field studies.

## 5. REFERENCES

- Adil M. A. Salman. (2012). Evaluation of four serological tests to detect prevalence of bovine brucellosis in Khartoum State. *Journal of Cell and Animal Biology*, 6(9), 140–143. <https://doi.org/10.5897/jcab11.072>
- Al-Afifi, A. H., Almashhadany, D. A., Al-Azazi, A. S. H., Khalaf, A. M., Odhah, M. N. A., & Al-Gabri, N. A. (2022). Prevalence of *Brucella* spp. in milk from aborted and non-aborted animals in Dhamar governorate, Yemen. *Italian Journal of Food Safety*, 11(4). <https://doi.org/10.4081/ijfs.2022.10370>
- Ali, S., Akhter, S., Neubauer, H., Melzer, F., Khan, I., Ali, Q., & Irfan, M. (2015). Serological, cultural, and molecular evidence of *Brucella* infection in small ruminants in Pakistan. *Journal of Infection in Developing Countries*, 9(5), 470–475. <https://doi.org/10.3855/jidc.5110>
- Al-azeem, M. W. A. B. D., & Ibrahim, I. G. A. (2010). Diagnosis of Brucellosis in Lactating Ewes Using Milk-Elisa. *Assiut Veterinary Medical Journal*, 56(125), 1–11. <https://doi.org/10.21608/avmj.2010.173915>
- Al-Mariri, A., Ramadan, L., & Akel, R. (2011). Assessment of milk ring test and some serological tests in the detection of *Brucella melitensis* in Syrian female sheep. *Tropical Animal Health and Production*, 43(4), 865–870. <https://doi.org/10.1007/s11250-010-9774-0>
- Bertu, W. J., Dapar, M., Gusi, A. M., Ngulukun, S. S., Leo, S., & Jwander, L. D. (2010). Prevalence of brucella antibodies in marketed milk in Jos and environs. *African Journal of Food Science*, 4(February), 62–64. [www.acadjourn.org/ajfs](http://www.acadjourn.org/ajfs) (Bertu et al., 2010)
- Delgado, S., Fernández, M., & Cármenes, P. (1995). Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of sheep infected and vaccinated with *Brucella melitensis*. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 7(2), 206–209. <https://doi.org/10.1177/104063879500700207>
- Ducrotoy, M. J., Conde-Álvarez, R., Blasco, J. M., & Moriyón, I. (2016). A review of the basis of the immunological diagnosis of ruminant brucellosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 171, 81–102. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2016.02.002>
- Ducrotoy, M. J., Muñoz, P. M., Conde-Álvarez, R., Blasco, J. M., & Moriyón, I. (2018). A systematic review of current immunological tests for the diagnosis of cattle brucellosis. *Preventive Veterinary Medicine*, 151(November 2017), 57–72. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2018.01.005>
- Franc, K. A., Krecek, R. C., Häsler, B. N., & Arenas-Gamboa, A. M. (2018). Brucellosis remains a neglected disease in the developing world: a call for interdisciplinary action. *BMC public health*, 18(1), 1-9.
- Genç, E., Serdar, G., Kılıçoğlu, Y., & Genc, O. (2022). Milk Non-Enzymatic Immunofiltration Assay “mNERIFA”: An Alternative Rapid Bovine Milk Test for Anti-*Brucella* Antibody Detection. *Kafkas University Vet Fak Derg*, 28(4), 431-436.
- Geresu, M. A., & Kassa, G. M. (2016). *Journal of Veterinary Science & Technology*.
- Greiner, M., Pfeiffer, D., & Smith, R. (2000). Principles and practical application of the receiver-operating characteristic analysis for diagnostic tests. *Preventive veterinary medicine*, 45(1-2), 23-41.
- Heck, F. C., Williams, J. D., Pruett, J., Sanders, R., & Zink, D. L. (1980). Enzyme-linked immunosorbent assay for detecting antibodies to *Brucella abortus* in bovine milk and serum. *American Journal of Veterinary Research*, 41(12), 2082—2084. <http://europepmc.org/abstract/MED/6782920>



- Jacobson, R.H., 1996. Principles of Validation of Diagnostic Assays for Infectious Diseases. Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines, 3rd ed. Office International de Epizooties, Paris, pp. 8–15.
- OIE (World Organization for Animal Health). (2016). Terrestrial Manual: Chapter 2.1.4. Brucellosis (*Brucella abortus*, *B. melitensis* and *B. suis*). Infection with *B. abortus*, *B. melitensis* and *B. sui*. pp: 1–44.
- Quintero, A. F., Herrera, D. F. D., Alfonso, D. M., Santana, Y. C., Torres, R. B., & Tamayo, L. M. (2018). Evaluation of two rapid immunochromatographic tests for diagnosis of brucellosis infection in cattle. *Open Veterinary Journal*, 8(3), 236–242.
- Rahman, M. U., Ullah, A., Haroon, H., Bilal, M., Khan, F. M., & Naveed, M. (2020). Serological and Molecular Techniques for the Diagnostic of Brucellosis. *Science and Technology Development Journal*, 22(4), 378–386. <https://doi.org/10.32508/stdj.v22i4.1709>
- Saini, S., Gupta, V. K., Gururaj, K., Singh, D. D., Pawaiya, R. V. S., Gangwar, N. K., Mishra, A. K., Dwivedi, D., Andani, D., Kumar, A., & Goswami, T. K. (2017). Comparative diagnostic evaluation of OMP31 gene based TaqMan® real-time PCR assay with visual LAMP assay and indirect ELISA for caprine brucellosis. *Tropical Animal Health and Production*, 49(6), 1253–1264. <https://doi.org/10.1007/s11250-017-1323-7>
- Seleem, M. N., Boyle, S. M., & Sriranganathan, N. (2010). Brucellosis: A re-emerging zoonosis. *Veterinary Microbiology*, 140(3–4), 392–398. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.06.021>
- Shome, R., Folia, G., Padmashree, B. S., Krithiga, N., Sahay, S., Triveni, K., Shome, B. R., Mahajan, V., Singh, A., & Rahman, H. (2015). Evaluation of lateral flow assay as a field test for investigation of brucellosis outbreak in an organized buffalo farm: A pilot study. *Veterinary World*, 8(4), 492–496. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2015.492-496>
- Uzal, F. A., Carrasco, A. E., Echaide, S., Nielsen, K., & Robles, C. A. (1995). Evaluation of an Indirect ELISA for the Diagnosis of Bovine Brucellosis. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 7(4), 473–475. <https://doi.org/10.1177/104063879500700408>
- Vanzini, V. R., Aguirre, N., Lugaresi, C. I., De Echaide, S. T., De Canavesio, V. G., Guglielmo, A. A., Marchesino, M. D., & Nielsen, K. (1998). Evaluation of an indirect ELISA for the diagnosis of bovine brucellosis in milk and serum samples in dairy cattle in Argentina. *Preventive Veterinary Medicine*, 36(3), 211–217. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(98\)00080-4](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(98)00080-4)

## RISK FACTORS RELATED TO WHEAT CULTIVATION

*Gözde Hafize YILDIRIM<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> *Research Assistant, Ordu University, Department of Field Crops, Faculty of Agriculture, Ordu, Türkiye*

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0557-6442>

*Nuri YILMAZ<sup>2</sup>*

<sup>2</sup> *Professor Doctor, Ordu University, Department of Field Crops, Faculty of Agriculture, Ordu, Türkiye*

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0597-6884>

### ABSTRACT

Wheat is much more important than other agricultural products as it is the raw material for staple foods around the world. Wheat is the raw material for bread and a staple food in 50 countries around the world. In tropical and subtropical regions, humid climates with high rainfall pose a risk to wheat production. Recent research shows that a better-developed weather forecasting can improve farmers' adaptive responses, such as more timely planting, more effective preplant spacing and wider use of crop protection practices. On the other hand, risk factors such as drought and high temperatures are known to be increasing in regions where wheat is typically grown. These risk factors have been observed to contribute to significant yield and quality losses and increased production costs in recent years. Wheat cultivation in these regions is one of the most important and profitable agricultural activities today due to the high product standards required and the external markets that can be secured through appropriate cultivation practices. In general, the proportion of arable land used for wheat production has decreased compared to other crops such as cotton and sugar beet, but has increased each year over the last decade due to the growing demand for wheat flour. Based on the above information, this study will discuss the risk factors associated with wheat cultivation in the context of the relevant literature.

**Keywords:** Wheat, Risk Factors, Drought

### Introduction

The effects of climate on wheat production and production-related risk factors are a major concern for farmers and nutritionists due to their importance for food security in this region (Karim & Rahman, 2015).

In tropical and subtropical regions, humid climate with high precipitation poses a risk for wheat cultivation. Recent research shows that with well-developed weather forecasting, farmers' adaptive responses can be enhanced, such as more timely planting, more effective spacing before planting, and wider use of conservation practices. Further research efforts are needed to explore the effects of these management practices in humid regions on crop growth and yield (Mottaleb vd., 2018).

Wheat is much more important than other agricultural products since it is the raw material of basic foods all over the world. Wheat is the raw material of bread and is the staple food of 50 countries around the world. In this respect, wheat meets the nutritional needs of 35% of the world population, 20% of daily calories and 21% of protein. Wheat is in the first place among the cultivated plants used in human nutrition because it has a wide adaptation ability in terms of cultivation and production. In Turkey, 53% of the total calories per capita is obtained from wheat and it is used in many food and industrial sectors, especially in bakery products (Öztürk vd., 2023).

Wheat cultivation in the regions is among the most important and profitable agricultural activities of today due to foreign markets that require high standards of products and can be provided with

appropriate cultivation practices. In general, the proportion of cultivated land used for wheat production has decreased compared to other crops such as cotton and sugar beet, but has increased every year due to the increasing demand for wheat pulp in the last five years. In this context, it is stated that climate change is an important factor on this situation and wheat cultivation areas have increased with climate change. Based on the given expressions; It is observed that large areas are reserved for cereals due to their ability to tolerate drought conditions and poor soils (Yaman vd., 2020).

Based on the information given above, in this study, risk factors related to wheat cultivation will be discussed within the framework of the relevant literature.

#### **Risk factors related to wheat cultivation**

Wheat cultivation in the regions is susceptible to weather and climate-related risks such as floods, droughts, heat waves and cold periods. These factors have an impact on humidity and temperature requirements for optimum wheat production. Grain growth is highly dependent on soil water potential and timing of irrigation or irrigation. Long growing season varieties are more resistant to stress factors such as drought, heat and cold stress than short growing season varieties. In this context, animals' access to irrigated areas should be limited in order to reduce nitrogen losses and nitrate toxicity, and sheep may need to access grazing areas in winter months when irrigation is not available (Budhathoki vd., 2020).

It is known that risk factors such as drought and high temperatures are becoming more common in regions where wheat is typically cultivated. These given risk factors have been observed to contribute to significant yield and quality losses and increased production costs in the last few years (Pequeno vd., 2021).

Some studies in wheat cultivation areas have shown that risk factors for wheat cultivation are associated with lack of expertise, lack of interest, lack of organization and lack of infrastructure. In this context, Yigezu et al. (2021) explained that risk factors for wheat cultivation in Algeria and Egypt include irrigation, removal of grains from crop rotation, and the effects of soil salinity. He explained the most important risk factor in Morocco, especially in terms of the quality and quantity of grain production, as “drought” (Yigezu vd., (2021).

Wheat can be described as the third most important grain in the world after rice and corn. At this point, it can be said that wheat provides 17% of the calories consumed by humans and the general importance of this crop in human nutrition is quite large. Based on the given importance, it can be stated that the production areas of wheat have decreased and/or its yield has decreased due to climate change (Awika, 2011).

It is stated that the world is experiencing one of the biggest wheat crises of the last 25 years in connection with extreme weather conditions in most of the production areas. In this context, it is stated that this situation is a risk factor for crop producers, but it also offers various opportunities for wheat buyers, traders and grain processors (Shiferaw vd., 2013).

Wheat farming in the regions has become a difficult and risky process due to the increasing number of soil diseases. Another important causes include the increased use of chemical fertilizers and water shortages that affect plant nutrition and water balance, which in turn cause stress on plants. In order to combat these issues, farmers must take preventative measures such as rotating crops, planting disease resistant varieties, controlling weeds and utilizing only organic fertilizers (Chakraborty & Newton, 2011).

Risk factors related to wheat cultivation in the regions include a decrease in soil temperature, moisture content and organic matter. Although wheat is a major food source for the world's population, it is not always easy to produce an optimal quality product. Agricultural practices should therefore be adapted to local conditions and markets to obtain maximum yields while maintaining environmental responsibility. Wheat production depends on a diversity of factors including: soil, climate and weather conditions, availability of water, crop management practices, genetic traits of varieties selected, agrochemicals used. Each of these elements can influence both crop development and final grain quality (Panhwar vd., 2019).

Wheat cultivation is a high risk endeavor in the regions given that there are many factors that may negatively affect the field's yield. Factors such as lack of rainfall, droughts, and pests can all be part of this risk. Other factors include unbalanced crop rotation and intercropping, which can cause wind damage to the wheat crops (Reilly vd., 1998).

Climate change and variability are the dominant challenges that threaten food security and global hunger. Wheat is the staple food for most people in the world; however, its cultivation is threatened due to increasing temperature and changing precipitation patterns (Ali vd., 2017).

The cultivation of wheat in the regions presents a high risk because of the lack of irrigation infrastructure and the amount of rainfall that the crops are exposed to. The following risk factors related to wheat cultivation in the regions were identified (Alauddin & Sarker, 2014):

- The rain deficits and excessive precipitation that may cause drought,
- Landslides and mudflows,
- Rivers flooding which leads to crop damage and promote weeds growth, as well as frost hazards in particular during germination, early growth stages and subsequent stages.

The aim of the study prepared by Rezaei vd., (2019); identify the risk factors related to wheat cultivation in regions. Data were obtained by conducting a quantitative research on farmers' perceptions of the most important risks faced while cultivating wheat in northwestern rural areas of Iran during 2015–2016. The sample population consisted of 786 farmers selected randomly through stratified random sampling method in three municipalities each in Mazandaran Province, Gilan Province and Zanjan Province. Most important findings indicated that low rainfall is identified as the most important risk factor among all factors including pests, diseases and weeds (Rezaei vd., 2019).

In another research several risk factors related to wheat cultivation in the regions have been identified and analyzed. The main risk factor is not an appropriate use of fertilizer and pesticides during the growing season, which negatively impacts the yield and quality of the crop (Springmann vd., 2016).

Wheat cultivation in the regions is a high risk area and susceptible to natural calamities like floods, landslides, droughts, cyclones among others. Wheat farmers face economic losses due to epidemics such as rust disease, which cause production losses of up to 80% in some areas (Ullah & Takaaki, 2016).

Wheat cultivation is among the most important agricultural practices in the world. It is reported that wheat cultivation provides more than 20% of the global total caloric intake. However, recent studies have pointed out negative effects on soils worldwide due to wheat cultivation, including adverse effects on water quantity and quality (Daryanto vd., 2016).

Wheat cultivation in the regions is increasingly exposed to climate change and other global environmental changes. Wheat is a major source of food for humans, as it plays an important role in meeting people's daily demand for carbohydrates (Aggarwal, 2008).

Wheat is one of the most important crops worldwide, especially in the agricultural sectors of central and eastern Europe. The cultivation of wheat is concentrated in large areas of high-productive farmland, which makes it vulnerable to changing climate conditions. Recent trends have seen a rise in the number of regions that require water for irrigation due to higher temperatures and less precipitation (Eitzinger vd., 2013).

### **Conclusions**

The results obtained from this study, which was prepared to explain the risk factors related to wheat cultivation in the regions, are listed below.

The factors that contribute to the success of a region are mainly related to human resources, the environment and market conditions. Among the physiological and environmental factors, only the presence of pre-sowing rain is considered suitable for farmer activities.

The risk factors determined within the scope of the literature examined on wheat cultivation are given below:

- Excessive or insufficient rainfall
- Climate changes
- Low temperature during flowering
- Low soil moisture level during the early growth phase
- Disease factors
- Wrong agricultural practices
- Frost and drought.

It becomes clear that the risks given above are important risk factors for wheat, which is the most important agricultural product, and at this point, it is necessary to pay attention to the risk factors. In general, by estimating the extent and intensity of climate change that may affect the sustainability of agricultural production, crop production changes can be identified in different regions, especially in arid and semi-arid areas. Given that farmers are often unaware of risk factors, identifying these factors can be very effective in combating, adapting to and mitigating the effects of climate change.

### References

- Aggarwal, P. K. (2008). Global climate change and Indian agriculture: impacts, adaptation and mitigation. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 78(11), 911.
- Alauddin, M., & Sarker, M. A. R. (2014). Climate change and farm-level adaptation decisions and strategies in drought-prone and groundwater-depleted areas of Bangladesh: an empirical investigation. *Ecological Economics*, 106, 204-213.
- Ali, S., Liu, Y., Ishaq, M., Shah, T., Ilyas, A., & Din, I. U. (2017). Climate change and its impact on the yield of major food crops: Evidence from Pakistan. *Foods*, 6(6), 39.
- Awika, J. M. (2011). Major cereal grains production and use around the world. In *Advances in cereal science: implications to food processing and health promotion* (pp. 1-13). American Chemical Society.
- Budhathoki, N. K., Paton, D., Lassa, J. A., Bhatta, G. D., & Zander, K. K. (2020). Heat, cold, and floods: Exploring farmers' motivations to adapt to extreme weather events in the Terai region of Nepal. *Natural Hazards*, 103, 3213-3237.
- Chakraborty, S., & Newton, A. C. (2011). Climate change, plant diseases and food security: an overview. *Plant pathology*, 60(1), 2-14.
- Daryanto, S., Wang, L., & Jacinthe, P. A. (2016). Global synthesis of drought effects on maize and wheat production. *PloS one*, 11(5), e0156362.
- Eitzinger, J., Trnka, M., Semerádová, D., Thaler, S., Svobodová, E., Hlavinka, P., ... & Žalud, Z. (2013). Regional climate change impacts on agricultural crop production in Central and Eastern Europe—hotspots, regional differences and common trends. *The Journal of Agricultural Science*, 151(6), 787-812.
- Karim, M. R., & Rahman, M. A. (2015). Drought risk management for increased cereal production in Asian least developed countries. *Weather and Climate Extremes*, 7, 24-35.
- Mottaleb, K. A., Singh, P. K., Sonder, K., Kruseman, G., Tiwari, T. P., Barma, N. C., ... & Erenstein, O. (2018). Threat of wheat blast to South Asia's food security: An ex-ante analysis. *PLoS One*, 13(5), e0197555.
- Panhwar, Q. A., Ali, A., Naher, U. A., & Memon, M. Y. (2019). Fertilizer management strategies for enhancing nutrient use efficiency and sustainable wheat production. In *Organic farming* (pp. 17-39). Woodhead Publishing.
- Pequeno, D. N., Hernandez-Ochoa, I. M., Reynolds, M., Sonder, K., MoleroMilan, A., Robertson, R. D., ... & Asseng, S. (2021). Climate impact and adaptation to heat and drought stress of regional and global wheat production. *Environmental Research Letters*, 16(5), 054070.

- Reilly, J. M., & Fuglie, K. O. (1998). Future yield growth in field crops: what evidence exists?. *Soil and Tillage Research*, 47(3-4), 275-290.
- Rezaei, R., Seidi, M., & Karbasioun, M. (2019). Pesticide exposure reduction: extending the theory of planned behavior to understand Iranian farmers' intention to apply personal protective equipment. *Safety Science*, 120, 527-537.
- Shiferaw, B., Smale, M., Braun, H. J., Duveiller, E., Reynolds, M., & Muricho, G. (2013). Crops that feed the world 10. Past successes and future challenges to the role played by wheat in global food security. *Food Security*, 5, 291-317.
- Springmann, M., Mason-D'Croz, D., Robinson, S., Garnett, T., Godfray, H. C. J., Gollin, D., ... & Scarborough, P. (2016). Global and regional health effects of future food production under climate change: a modelling study. *The Lancet*, 387(10031), 1937-1946.
- Talhelm, T., Zhang, X., Oishi, S., Shimin, C., Duan, D., Lan, X., & Kitayama, S. (2014). Large-scale psychological differences within China explained by rice versus wheat agriculture. *Science*, 344(6184), 603-608.
- Ullah, W., & Takaaki, N. (2016). Climate change vulnerability of Pakistan towards natural disasters: a review. *International Journal of Environmental Protection and Policy*, 4(5), 126.
- Yaman, H. M., Ordu, B., Zencirci, N., & Kan, M. (2020). Coupling socioeconomic factors and cultural practices in production of einkorn and emmer wheat species in Turkey. *Environment, Development and Sustainability*, 22, 8079-8096.
- Yigezu, Y. A., Abbas, E., Swelam, A., Sabry, S. R., Moustafa, M. A., & Halila, H. (2021). Socioeconomic, biophysical, and environmental impacts of raised beds in irrigated wheat: A case study from Egypt. *Agricultural Water Management*, 249, 106802.

**TANIDA MİKROSENSÖRLERİN KULLANIMI: APTAMER ÖRNEĞİ**  
**THE USE OF MICROSENSORS IN DIAGNOSIS: AN EXAMPLE OF APTAMER**

**Evrin Genç<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye

<sup>1</sup>ORCID ID: 0000-0002-6405-6076

**Görkem Topal<sup>2</sup>**

<sup>2</sup> Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye

<sup>2</sup>ORCID ID: 0000-0002-4380-4303

**Oktay Genç<sup>3</sup>**

<sup>3</sup> Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye

<sup>3</sup>ORCID ID: 0000-0003-0777-6824

**Özlem Büyüktanır Yaş<sup>4</sup>**

<sup>4</sup> Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye

<sup>4</sup>ORCID ID: 0000-0002-7641-7350

**ÖZET**

Veteriner hekimlikte enfeksiyon hastalıklarının tanısında kültür, ardından biyokimyasal testler ve serolojik testler gibi konvansiyonel testlerin yanı sıra moleküler testler kullanılmaktadır. Tanıda sensitivitesi ve spesifitesi yüksek, güvenilir ve kısa sürede sonuç alınabilen testlere büyük ihtiyaç duyulmaktadır. Enfeksiyonların tanısında mikrosensörler kullanılmaya başlanmıştır. Bu biyosensörler, biyolojik bir olayın elektriksel sinyale dönüştürülmesini sağlayan cihazlardır. Bu cihazların yapısında hedef moleküller ile spesifik etkileşimi sağlayan biyoreseptörler; mikroorganizmalar, antijenler, enzimler, antikorlar, nükleik asitler ve aptamerlerdir. Aptamerler, klinik analizlerde, hastalıkların tedavisinde, yeni ilaçların geliştirilmesinde ve ilaç taşınım sistemleri gibi çok geniş alanlarda uygulamaları bulunan biyomateryallerdir. Nükleik asit temelli aptamerler, geniş oranda nükleik asit olmayan analitlerin saptanmasında kullanılmaktadır. Aptamerler, spesifik üç boyutlu yapıya sahiptir ve bu sayede bakteri ve diğer mikroorganizmaları tanımlamaya yönelik belirli bir genetik diziye, amino asitlere, ilaçlara, proteinlere ve diğer küçük moleküllere yüksek afinite ve özgüllük ile bağlanabilen yapay tek zincirli DNA veya RNA molekülleridir. Genellikle 20-100 baz uzunluğunda değişen kısa oligonükleotid dizilerinden meydana gelen aptamerler, kararlı kompleks moleküllerdir. Bu sayede aptamerler elektrot yüzeyine kolaylıkla immobilize olur. Aptamerlerin yapısı üç boyutlu değişebilmektedir. Bu sayede, protein gibi makromoleküller aptamer ile üç boyutlu olarak birleşebilmektedir. Aptamerlerin hedef molekülleriyle yaptıkları oldukça özgül etkileşimler antijen-antikor etkileşimine benzer, ancak aptamerlerin antikorlara kıyasla birçok avantajı vardır. Nükleik asit aptamerleri sahip oldukları negatif fosfat omurgası sayesinde, pozitif yüklü hedef molekülleri ile etkileşime geçmektedir. Bunun haricinde hidrojen bağı, Van der Waals etkileşimleri ve şekil uygunluğu gibi etkileşimler de aptamer-hedef molekül bağlanmasında rol oynamaktadır. Aptamerler ısı, pH gibi değişen çevre koşullarına karşı antikorlardan daha fazla dayanıklıdır. Aptamerlerin yapısında bulunan dayanıklı fosfodiester bağları, kimyasal ve termal kararlılığını etkiler. Yüksek sıcaklıklarda denatüre olan antikorların yanı sıra aptamerler, bu kararlılıkları sayesinde geri dönüşümlü yapıya sahiptir. Ayrıca, aptamer modifikasyonu, seçiciliklerini ve özgüllüklerini arttırmak, fonksiyonlarını geliştirmek ve nükleaz enzimine karşı dirençlerini arttırmaktadır.

Belirli bir hedefe spesifik veya yüksek seçicilikte bağlanabilme özelliğine sahip olan aptamerlere dayalı tanı testleri veteriner hekimlikte infeksiyon hastalıkların tanısında yaygın kullanılabilme potansiyeline sahiptir.

**Anahtar kelimeler:** Aptamer, mikrosensör, tanı

## ABSTRACT

Diagnosis of infectious diseases in veterinary medicine are carried out by using conventional tests such as culture, biochemical tests and serological tests, as well as molecular tests. There is still a great need for reliable, rapid diagnostic tests with high sensitivity and specificity. In this way, microsensors have been used in the diagnosis of infections. These biosensors are devices that convert a biological event into an electrical signal. These devices contain bioreceptors that provide specific interaction with the target molecules such as microorganisms, antigens, enzymes, antibodies, nucleic acids and aptamers. Aptamers are biomaterials that have applications in a wide range of areas such as clinical analysis, treatment of diseases, development of new drugs and drug delivery systems. Nucleic acid-based aptamers are widely used in the detection of non-nucleic acid analytes. Aptamers have a specific three-dimensional structure and are thus artificial single-stranded DNA or RNA molecules that can bind with high affinity and specificity to a specific genetic sequence, amino acids, drugs, proteins and other small molecules to identify bacteria and other microorganisms. They are stable complex molecules consisting of short oligonucleotide sequences, usually 15-60 bases in length. In this way, the aptamers are easily immobilized to the electrode surface. Moreover, the three dimensional structure of aptamers can change. In this way, macromolecules such as protein can combine with the aptamer in three dimensions. The highly specific interactions of aptamers with their target molecules are similar to antigen-antibody interactions, but aptamers have several advantages over antibodies. Nucleic acid aptamers interact with positively charged target molecules, thanks to their negative phosphate backbone. In addition, interactions such as hydrogen bonding, Van der Waals interactions and shape conformity also play a role in aptamer-target molecule binding. They are more resistant to changing environmental conditions such as heat and pH than antibodies. The durable phosphodiester bonds in the structure of aptamers affect their chemical and thermal stability. In addition, modification of aptamers increases their selectivity and specificity, improves their function and increases their resistance to nuclease enzyme.

Diagnostic tests based on aptamers, which can bind to a specific target with high specificity and selectivity, have the potential to be widely used in the diagnosis of infectious diseases in veterinary medicine.

**Keywords:** aptamer, diagnosis, microsensor

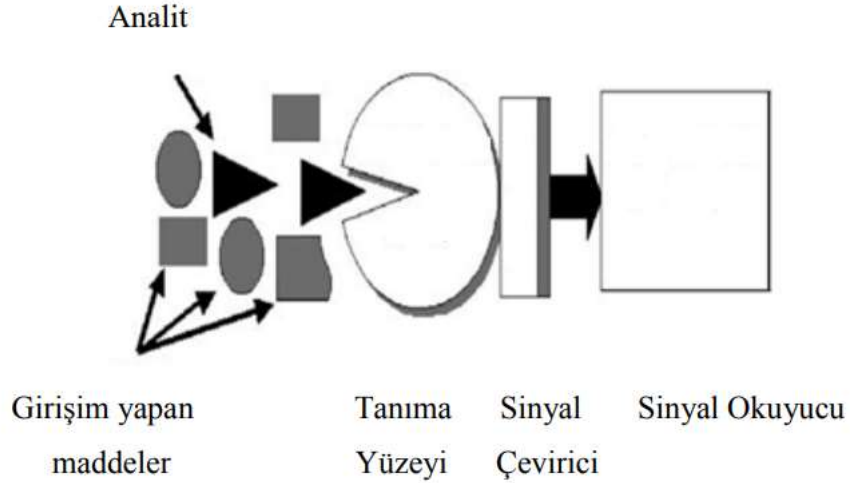
## 1.GİRİŞ

İnfeksiyon hastalıkların tanısında sensitivitesi ve spesifitesi yüksek, güvenilir, hızlı testlere büyük ihtiyaç duyulmaktadır. Biyosensörler infeksiyonların tanısında etken veya antikor yanıtı tayininde kullanılmakta olan, kısa sürede sonuç alınabilen testlerdir. Bu testlerin sahada kullanılabilme potansiyeli taşımaları önemlidir. Bu biyosensörlerde sonuçlar, biyolojik bir olayın elektriksel sinyale dönüştürülmesi yoluyla elde edilmektedir. Mikrobiyal biyosensörlerde spesifik tanıyı gerçekleştirmek amacıyla hedef molekülleri tanıma ve bağlanma özelliğinde olan biyoreseptörler kullanılmaktadır. Bu biyoreseptörler mikroorganizmalar, antijenler, enzimler, antikorlar, nükleik asitler ve aptamerlerdir. Aptamerlere dayalı biyosensörler üzerine yoğun araştırmalar yürütülmekte olup, rutin testler olarak kullanılabilme potansiyeline sahip tanı testleri geliştirilmektedir.

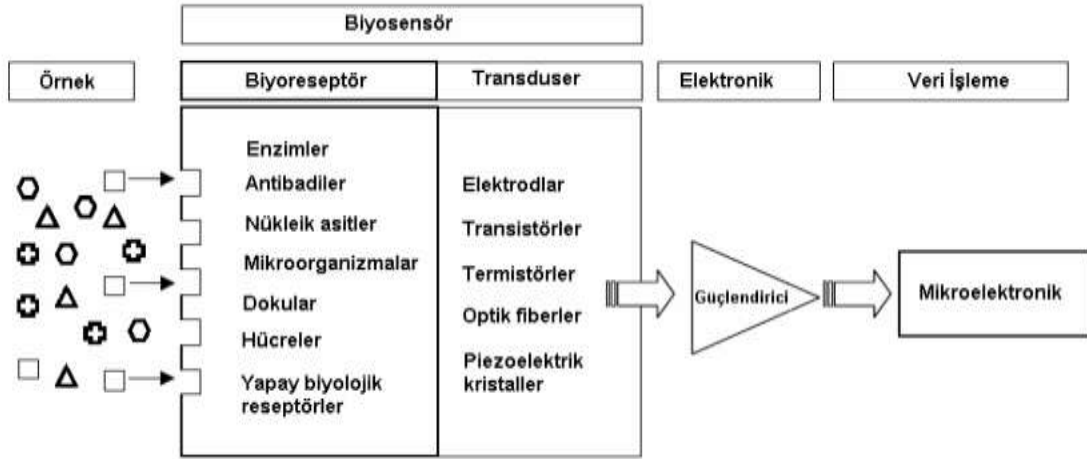
## 2. BİYOSENSÖRLER

Biyosensör, biyolojik veya kimyasal reaksiyonlardaki bir analitin konsantrasyonuyla orantılı sinyaller üretmek için kullanılan bir cihazdır (Bhalla ve ark., 2016). Biyosensör, biyokimyasal olaylarda bir biyolojik tanıma elemanı olan biyoreseptör ve kimyasal bir bileşiğe karşı verilen biyolojik yanıtı ölçülebilir sinyallere çeviren dönüştürücü (transduser) adı verilen iki kısımdan oluşmaktadır. Tipik bir biyosensör Şekil 1'de gösterilmektedir (Aykut ve Temiz, 2006).





Şekil 1. Biyosensörün yapısı (Aykut ve Temiz, 2006).



Şekil 2. Biyosensörlerin genel çalışma mekanizması (Velasco-Garcia ve Mottram, 2003).

Biyosensörlerde hedef hücre ve dokuları spesifik olarak tanıma ve bağlanma özelliğinde olan Şekil 2’de belirtilen biyoreseptörler hedef moleküller ile bağlandıklarında, farklı sinyal çevirici özelliklere sahip cihazda sonuçlar sinyal okuyucuya iletilmektedir (Şekil 2).

### 2.1. Biyosensörlerin Özellikleri

Biyosensör, hem analit tespiti için hem de analit konsantrasyonlarının ölçümünde kullanılmaktadır. Her biyosensörün sahip olduğu belirli statik ve dinamik özellikler vardır. Biyosensörün performansını etkileyen bu özellikler; seçicilik, tekrarlı uygulamalarda benzer sonuçların alınabilmesi, stabilite, sensitivite ve doğrusalıktır.

**I- Seçicilik**, bir biyoreseptörün diğer bileşenleri ve kontaminantları içeren bir numunedeki belirli bir analiti tespit etmesi şeklinde ifade edilmektedir.

**II-Tekrarlanabilirlik**, birden fazla kez ölçüm yapıldığında, sensörde benzer sonuçlar elde edilme yeteneğini göstermektedir.

**III-Stabilite**, bir biyosensörün biyoalgılama sistemi içindeki ve çevresindeki duyarlılığının derecesidir. Stabilitayı dönüştürücülerin sıcaklığa duyarlılığı, bir biyosensörün kararlılığı ve analitin biyoreseptöre bağlanma derecesi olan biyoreseptörün afinitesi etkilemektedir.

**IV-Sensitivite**, bir biyosensör tarafından tespit edilebilecek minimum analit miktarını (LOD/Limit of Detection), tespit sınırını veya hassasiyetini tanımlar.

**V-Doğrusallık**, biyosensörde ölçülen yanıtın doğruluğunu gösterir. Doğrusallık, biyosensörün rezolüsyonu, yani verileri ayırdediciliği ve test edilen analit konsantrasyonlarının aralığı ile ilişkilendirilebilir (Bhalla ve ark., 2016).

## 2.2. Biyosensörlerin Kullanım Alanları ve Çeşitleri

Biyosensörler, vücut sıvılarında (kan, idrar, tükürük, ter), hastalığa neden olan mikroorganizmaların ve hastalık göstergesi olan belirteçlerin tespitini gerçekleştirmektedir. Ayrıca, hastalık izleme, ilaç geliştirme, hava, su, topraktaki kirleticilerin belirlenmesi amaçlarıyla da kullanılmaktadır (Bhalla ve ark., 2016).

Biyosensör çeşitleri; enzim bazlı, doku bazlı, antijen bazlı biyosensörler, immünosensörler, DNA biyosensörleri ve termal ve piezoelektrik biyosensörler gibi çeşitli biyosensör türlerinden oluşmaktadır (Mehrotra, 2016).

Biyosensör yapısında hedef moleküller ile spesifik etkileşimi sağlayan biyoreseptörlerden biri olan aptamerler son yıllarda ön plana çıkan, gelecek vadeden moleküllerdir.

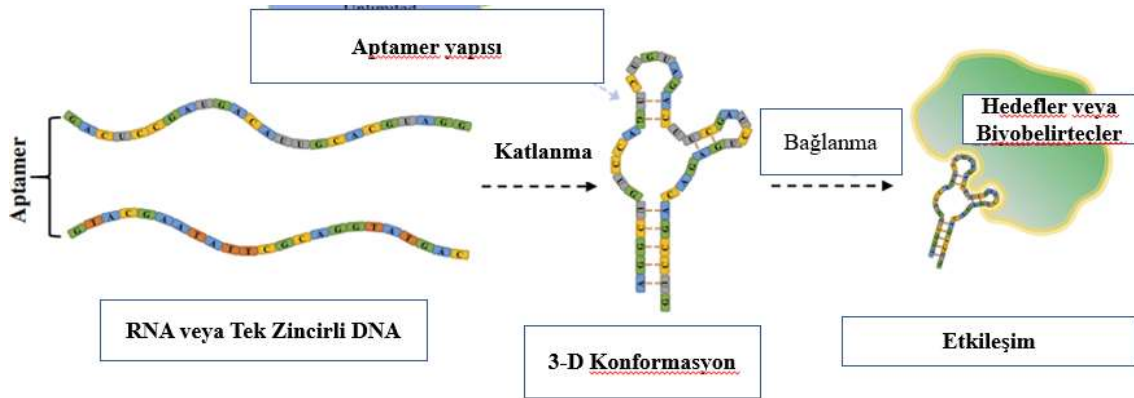
## 3. APTAMERLER

Aptamer kelimesi, ilk defa 1990'da Ellington ve Szostak, Robertson ve Joyce ile Tuerk ve Gold olmak üzere üç ayrı grup tarafından eş zamanlı geliştirilmiştir (Ellington ve Szostak, 1990; Robertson ve Joyce, 1990; Tuerk ve Gold, 1990). Latince uyum anlamına gelen "aptus" ve parça anlamına gelen "meros" kelimelerinden türetilmiştir ve aptamer ile hedefi arasındaki anahtar-kilit ilişkisini vurgulamak için seçilmiştir (Banerjee ve Nilsen-Hamilton, 2013). Çeşitli ve yüksek seçicilik ve özgüllük ile hedefleri bağlarlar.

### 3.1. Aptamerin Yapısı

Aptamerler, proteinler, peptitler, karbonhidratlar, toksinler ve hatta canlı hücreler dahil olmak üzere belirli bir hedefe spesifik olarak bağlanabilme özelliğinde olan, katlanarak benzersiz üç boyutlu yapılar oluşturan tek sarmallı DNA veya RNA (ssDNA veya ssRNA) molekülleridir. Aptamerler 20-80 nükleotid boyutlarında olacak şekilde üretilmektedir (Şekil 3) (Banerjee ve Nilsen-Hamilton, 2013; Guan ve Zhang, 2020).

### 3.2. Aptamerin Hedef Hücre ile Etkileşimi



**Şekil 3.** Biyomedikal uygulamalar için aptamer yapısı, özellikleri ve fonksiyonu (Guan ve Zhang, 2020).

Hedef biyobelirteçlere karşı üretilmiş olan tek zincirli DNA veya RNA yapısına sahip olan aptamerler, katlanarak farklı şekiller oluştururlar. Bu şekilde 3 boyutlu yapılarıyla şekil benzerliğine bağlı olarak hedef moleküller ile spesifik olarak bağlanma özelliğine sahip olurlar (Şekil 3). Geliştirme aşamasında çok sayıda üretilen aptamerlerin hedef biyobelirteçleri ile bağlanma özellikleri analiz edilerek, tanımlanabilecek spesifik aptamerler saptanmaktadır.

Nükleik asit aptamerleri sahip oldukları negatif fosfat omurgası sayesinde, pozitif yüklü hedef molekülleri ile etkileşim kurmaktadır. Bunun yanı sıra, hidrojen bağı, Van der Waals kuvvetleri,

hidrofobik/hidrofilik ve elektrostatik etkileşimler ve şekil uygunluğu gibi etkileşimler de aptamerin çeşitli hedefleri spesifik olarak tanıyabilmesi ve hedef moleküle bağlanmasında rol oynamaktadır (Şekil 3) (Stoltenburg ve ark., 2007; Guan ve Zhang, 2020).

### 3.3. Aptamerlerin Kullanım Alanları

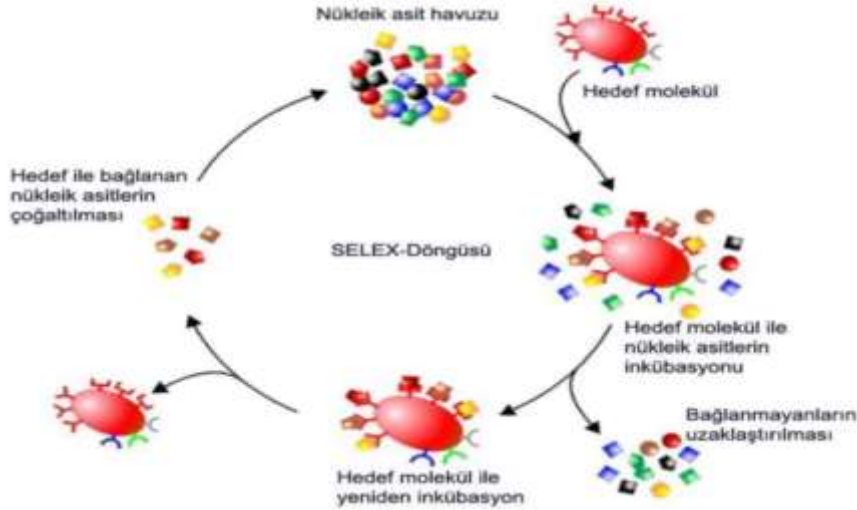
Aptamerler, klinik analizlerde, hastalıkların tanısında ve tedavisinde, yeni ilaçların geliştirilmesinde ve ilaç taşınım sistemleri gibi çok geniş alanlarda kullanılmaktadır. Bu yapıların terapötik amaçlarla kullanımı, ilk defa 1990 yılında Tuerk ve Gold'un bakteriyofaj T4 DNA polimerazına karşı bir RNA aptamerinin seçimi için ilk SELEX yöntemini geliştirmesiyle başlamıştır (Tuerk and Gold, 1990). Ayrıca yaşlanmaya bağlı bozukluklar, obezite ve diabetes mellitus, kardiyovasküler hastalıklar, bulaşıcı hastalıklar, kan pıhtılaşması, kemik hastalıkları, immünolojik hastalıklar ve kanserlerin tedavisinde de kullanılmaktadır (Guan and Zhang, 2020). Teşhis amacıyla kullanılan aptamerler, tipik olarak algılamayı mümkün kılmak için uygun nanoparçacıklara (NP'ler) konjuge edilmektedir. Proteinler, fosfolipitler, küçük moleküller, şekerler, virüsler, bakteriler, parazitler, canlı hücreler ve dokular dahil olmak üzere çok çeşitli hedefler için aptamerler üretilmektedir.

### 3.4. Aptamer Seçimi - SELEX (Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment)

DNA veya RNA aptamerleri, SELEX (üstel zenginleştirme yoluyla ligandların sistematik evrimi) olarak bilinen bir işlem ile nükleik asit kütüphanelerinden seçilebilir. Bir SELEX işleminin temel adımları Şekil 4'de gösterilmektedir (Stoltenburg ve ark., 2007).

- 1- Başlangıçta, rastgele seçilmiş yaklaşık  $10^{13}$ - $10^{15}$  farklı oligonükleotitten oluşan, kimyasal olarak sentezlenmiş DNA/ RNA oligonükleotid kütüphanesi oluşturulur.
- 2- DNA/RNA aptamerleri hedef molekül (bakteri, virus vs.) ile bir araya getirilerek inkübe edilir.
- 3- Hedef moleküle afinite gösteren moleküller bağlanır. Yıkama işlemi yapılır. Hedef moleküle bağlanmayan aptamerler, affinite kromatografisi, manyetik ayırma, filtreleme ya da santrifüjleme yöntemleri kullanılarak uzaklaştırılırlar.
- 4- Hedefle bağlı aptamerler (oligonükleotitler), PZR (DNA SELEX) veya ters transkripsiyon (RT)-PZR (RNA SELEX) ile ayrıştırılır, çoğaltılır.
- 5- PZR işlemi sonucunda çift sarmallı DNA meydana gelir. Bir sonraki SELEX işleminde kullanılması için çift sarmallı DNA'dan tek zincirli DNA (ssDNA) veya transkripsiyon yoluyla tekrardan RNA oluşturulur.
- 6- Seçilen oligonükleotitlerin yeni ve zenginleştirilmiş havuzu, bir sonraki SELEX döngüsünde hedefle bağlanması için hazırlanmış olur.
- 7- Son SELEX döngüsü sonucunda, hedef moleküle bağlanabilecek en yüksek afinite ve özgüllüğe sahip aptamerler elde edilmiş olur. Genel olarak, yüksek derecede afinite ve özgüllüğe sahip aptamerlerin elde edilmesi için 6 - 20 SELEX döngüsü gereklidir.

Son SELEX döngüsü PZR ürünleri vektörde klonlanır. Hedefle bağlanan aptamerin spesifik dizisini belirlemek için sekans analizi yapılır (Stoltenburg ve ark., 2007; Marton ve ark., 2016). Aptamer dizileri, CLustal ve Mfold yapı tahmin algoritmaları kullanılarak analiz edilir (Marton ve ark., 2016).



Şekil 4. SELEX teknolojisi kullanılarak hedefe özel aptamerlerin in vitro seçimi (Proske ve ark., 2005)

SELEX işlemi, yüksek afiniteli bir aptamer elde edilene kadar aptamer popülasyonunu daha da hassaslaştırmak için birden çok kez tekrarlanır ve hedefe spesifik aptamer seçilir.

### 3.5. Aptamerlerin Antikorlar ile Karşılaştırılması

Enfeksiyon hastalıklarının direkt serolojik tanısında sıklıkla kullanılmakta olan antikorlar (immünglobulinler) vücutta mikroorganizmalara karşı korunmayı sağlayan glikoprotein yapılı moleküllerdir. Antikorlar antijenler ile spesifik bağlanma özelliğine sahiptir. Aptamerlerin antikorlara kıyasla birtakım üstün özellikleri olduğu bildirilmektedir. Antikorlar ısıya dayanıksızdır. Aptamerler ısıya dayanıklıdır ve kararlı bir yapıya sahiptir. Aptamerler antikorlara kıyasla, 'gizlenmiş' biyolojik ortamlara erişimi iyileştiren daha küçük boyutları, immunojen olmamaları, nükleotid üretiminin daha düşük maliyeti ve daha yüksek tekrarlanabilirliği dahil olmak üzere birçok avantaja sahiptir (Banerjee ve Nilsen-Hamilton, 2013).

### 3.6. Mikrobiyal Tanıda Aptamerlerin Kullanımı

DNA bazlı aptamerlerin, çeşitli bakteriyel antijenler için yüksek afinite ve özgüllük sergilediği başarıyla gösterilmiştir. Aptamerler tüm hücre bakterilere spesifik (Marton ve ark., 2016; Moon ve ark., 2015) veya bir bakterinin tanıda önemli, ayırıcı bir virülens faktörüne karşı elde edilebilmektedir (Hamula ve ark., 2016). Kusumawati ve ark. (2022) yaptıkları çalışmada, modifiye-SELEX yöntemi kullanarak mastitis etkeni bakteriler olan *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* ve *E. coli*'ye karşı poliklonal DNA aptameri geliştirmişlerdir. Bu üç hedef bakteriden her birine yüksek düzeyde bağlanma özelliğinde olan aptamerler seçilmiştir.

## 4. SONUÇ

Biyosensörler, hedef analiti tanıyan bir biyomolekülden ve tanıma olayını ölçülebilir bir sinyale dönüştüren bir dönüştürücüden oluşmaktadır. Enfeksiyon etkenlerin spesifik tanısında kullanılacak tanı testlerinin sensitivitesi yüksek, güvenilir olması, yalancı pozitifliğin olmaması önem taşımaktadır. Tek zincirli DNA ve RNA Aptamerleri üç boyutlu katlanmalarla hedef hücre, doku ve molekülleri spesifik olarak tanıma ve bağlanma özelliğindedir. Farklı çalışmalarda aptamerlere dayalı tanı testlerinin spesifitesi ve sensitivitenin yüksek olduğu gösterilmiştir. Aptamerlerin monoklonal antikorlar ile yarışacak düzeyde iyi kalitede tanı antijenleri olma potansiyeline sahip oldukları vurgulanmıştır. Veteriner ve halk sağlığı açısından önemli enfeksiyon hastalıklarının tanısına yönelik olarak geliştirilen aptamer tabanlı tanı testleri yaygın kullanılma potansiyeline sahiptir.

## 5. KAYNAKLAR

Aykut, U, & Temiz, H. (2006). Biyosensörler ve Gıdalarda Kullanımı. Gıda Teknikleri Elektronik Dergisi, 3; 51-59.

- Banerjee, J., & Nilsen-Hamilton, M. (2013). Aptamers: multifunctional molecules for biomedical research. *J Mol Med (Berl)*, 91(12), 1333-1342.
- Bhalla, N., Jolly, P., Formisano, N., & Estrela, P. (2016). Introduction to biosensors. *Essays Biochem*, 60(1):1-8.
- Ellington, A.D., & Szostak, J.W. (1990). In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands. *Nature*, 346 (6287):818–822.
- Guan, B., & Zhang, X. (2020). Aptamers as Versatile Ligands for Biomedical and Pharmaceutical Applications. *Int J Nanomedicine*, 15:1059-1071.
- Hamula, C.L., Peng, H., Wang, Z., Tyrrell, G.J, Li, X.F., & Le, X.C. (2016). An improved SELEX technique for selection of DNA aptamers binding to M-type 11 of *Streptococcus pyogenes*. *Methods*, 97:51-7.
- Kusumawati, A., Mustopa, A.Z., Wibawan, I. W. T., Setiyono, A., & Sudarwanto, M. B. (2022). A sequential toggle cell-SELEX DNA aptamer for targeting *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* and *Escherichia coli* bacteria. *J Genet Eng Biotechnol*, 20(1), 95.
- Marton, S., Cleto, F., Krieger, M. A., & Cardoso, J. (2016). Isolation of an Aptamer that Binds Specifically to *E. coli*. *PLoS One*, 11(4), e0153637.
- Mehrotra, P. (2016). Biosensors and their applications - A review. *J Oral Biol Craniofac Res*, 6(2):153-9.
- Moon, J., Kim, G., Park, S.B., Lim, J., & Mo, C. (2015). Comparison of whole-cell SELEX methods for the identification of *Staphylococcus aureus*-specific DNA aptamers. *Sensors (Basel)*, 15(4):8884-97.
- Proske, D., Blank, M., Buhmann, R., Resch, A. (2005). Aptamers-basic research, drug development, and clinical applications. *Appl Microbiol Biotechnol*, 69(4):367-74.
- Robertson, D.L., & Joyce, G.F. (1990). Selection in vitro of an RNA enzyme that specifically cleaves single-stranded DNA. *Nature*, 344:467–468.
- Stoltenburg, R., Reinemann, C., & Strehlitz, B. (2007). SELEX--a (r)evolutionary method to generate high-affinity nucleic acid ligands. *Biomol Eng*, 24(4):381-403.
- Tuerk, C., & Gold, L. (1990). Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase. *Science*, 249:505–510.
- Velasco-Garcia, M.N., & Mottram, T. (2003). Biosensor technology addressing agricultural problems. *Biosystems Engineering*, 84(1); 1-12.

**KISRACLARDA SALMONELLA ABORTUS EQUI: LABORATUVAR TANISINA  
ELEŞTİREL YAKLAŞIM**

**SALMONELLA ABORTUS EQUI IN MARES: A CRITICAL APPROACH TO  
LABORATORY DIAGNOSIS**

***Derya KARATAŞ YENİ***

<sup>1</sup>*Dr., Necmettin Erbakan Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ereğli  
KONYA.*

<sup>1</sup>*ORCID ID: 0000-0001-7261-1394*

**ÖZET**

Salmonella etkenleri, insanlarda ve hayvanlarda yüksek riskli enfeksiyonlara sebep olan tüm dünyada yaygın olarak görülen birçok türü kapsamaktadır. *S. abortus equi* etkeni ise tüm dünyada yaygın enfeksiyonlara sebep olan bu etken, özellikle at ve eşeklerde dişilerde abortlar ile karakterize olarak bildirilmiştir. Etkenin suşları virülans açısından farklılık göstermektedir. *S. abortus equi* etkeninden ileri gelen enfeksiyonların üzerine yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır. Fakat etken, aynı zamanda erkeklerde testis lezyonları, orşit ve yenidoğanda septisemi ile karakterize enfeksiyonlara da sebep olmaktadır. Ülkemizde özellikle serolojik yoklamalar ile etken teşhisine gidilmektedir. Kısıraklarda özellikle abortlara neden olan bu ajanın hastalık mekanizmasının daha fazla çalışılması, serolojik yoklamaların çapraz reaksiyonlar yönüyle de incelenmesi gerekmektedir. Kısıraklarda özellikle yavru atma gerçekleştikten yaklaşık 2 hafta sonra yüksek bir *Salmonella* aglütinin titresi gelişir. Aşılardan kısıraklar bir yıla kadar pozitif reaksiyon verebildiği bildirilmiştir. Enfekte bir kısırak tarafından aborta sebep olmasa bile doğumu takiben yaşamın ilk birkaç gününde akut septisemi geliştirebilir. Yenidoğanlarda aynı zamanda poliartrit gelişebilmektedir. Tam olarak hastalıktan sorumlu etken kaynağının araştırılması amacıyla, serolojik yoklamalar ile seropozitif olarak belirlenen hayvanlarda aynı şekilde, moleküler yöntemler, izolasyon çalışmaları kombine olarak değerlendirilmelidir. Bu şekilde hastalık salgınlarının kökenini belirlemek mümkündür. Aşıların ve hiperimmün serumların yaygın kullanımı, gelişmiş ülkelerde hastalığın neredeyse tamamen ortadan kaldırılmasıyla tanınır. Enfeksiyonun yayılmasını önlemek ve aynı zamanda ülkemizde de eradikasyon programlarına hız kazandırabilmek amacı ile, enfekte kısırakların izolasyonu, düşük materyalin atılması dahil olmak üzere dikkatli hijyen ve separasyon kuralları birlikte uygulanmalıdır. Enfekte aygırlar üreme için kullanılmamalıdır. Ayrıca, önemli bakteriyel atık etkenlerinden *Shigella* spp., *Brucella abortus*, *Brucella melitensis* etkenleri açısından da değerlendirilip laboratuvar tanısında eliminasyonun yapılması önem arz etmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Abort, kısırak, *Salmonella abortus equi*

**ABSTRACT**

Salmonella agents include many species common all over the world that cause high-risk infections in humans and animals. *Salmonella abortus equi* is a factor that causes abortions in mares. *S. abortus equi* strains differ in terms of virulence. Studies on infections caused by *S. abortus equi* are very limited. However, this factor, which causes widespread infections all over the world, has been reported to be characterized by abortions in females, especially in horses and donkeys. The agent also causes infections characterized by testicular lesions in males, orchitis and septicemia in newborns. In our country, agent diagnosis is made especially by serological examinations. The mechanism that causes abortions in mares should be studied more, and serological examinations should be examined in terms of cross-reactions. A high titer of *Salmonella* agglutinin develops in mares, especially around 2 weeks after abortion. It has been reported that vaccinated mares can give a positive reaction for up to one year. Even if it does not cause abortion by an infected mare, she may develop acute septicemia in the first few days of life following birth. Newborns can also develop polyarthritis. In order to investigate the causative agent

responsible for the disease exactly, in animals determined to be seropositive by serological examinations, molecular methods and isolation studies should be evaluated in combination. In this way it is possible to determine the origin of disease outbreaks. Widespread use of vaccines and hyperimmune serums is credited with almost complete eradication of the disease in developed countries. In order to prevent the spread of infection and to accelerate eradication programs in our country, careful hygiene and separation rules, including isolation of infected mares and disposal of low material, should be applied. Infected stallions should not be used for breeding. In addition, it is important to be evaluated in terms of *Shigella* spp., *Brucella abortus*, *Brucella melitensis* agents, which are important bacterial waste agents, and to eliminate them in laboratory diagnosis.

**Keywords:** Abortion, mare, *Salmonella abortus equi*

## GİRİŞ

Enterobacteriaceae üyesi olan *Salmonella* Gram negatif, fakültatif anaerob, çubuk şeklinde bakteri olarak bu familyanın temel karakteristiklerini taşır. *Salmonella* 0,7-1,5 x 2-5 µm boyutlarında, düz, uçları hafif yuvarlak çubuk bakterilerdir. Konakçıya adapte olan serovarlar: *S. Gallinarum* (tavuk), *S. Dublin* (sığır), *S. Abortus-equi* (at), *S. Abortus-ovis* (koyun), *S. Choleraesuis* (domuz) serotiplerini içerir(Brenner,1984)

*Salmonella enterica* alt türü *enterica* serovar *abortus equi* (*S. abortus equi*), özellikle kısıraklarda abortlara sebep olan konakçı spesifik bir etken olarak bilinmektedir. *S. abortus-equi*, kısıraklarda abortlara sebep olabilmektedir. Taylarda artrit aygırlarda ise orşitler ile ilişkilendirilmiştir. Kısıraklara enfeksiyon bulaşmasında aygırların rolü büyüktür. Bu sebeple bulaşmada büyük önem arz etmektedir. Kısıraklarda abortların %30'undan *S. Abortus equi* sorumludur (Swerczek 1991b). *S. Abortus equi* suşlarının antijenik formülü 4,12: e,n,x olarak bilinir. (Madic,2010) *S. abortus-equi* türleri, belirli bir biyotipe aittir ve en az iki faj tipine bölünebilmektedir. *S. abortus-equi* dışındaki *Salmonella* serotiplerinin de atlarda enfeksiyona neden olabileceğini bildirilmiştir (Singh, 1971). Genellikle Asya'dan ve Afrika'dan bildirilirken, *S. Abortus equi*'nin günümüzde çok fazla izolasyon bildirimi raporlanmamıştır. *S. Abortus equi*'nin artık izole olmadığı görülmüyor. (Swerczek 1991a; Hong ve ark. 1993). Yakın zamandaki *S. Abortus equi*'nin neden olduğu kısıraklarda abort salgını Hırvatistan'da serolojik olarak yapılan çalışmalar bildirilmiştir (Madic,2010) Abort yapan kısıraklar genellikle incelendiğinde, fetüslerde lezyonlar ve spesifik semptomlar görülmediği raporlanmıştır. Bunun yanı sıra subkutan ödem, subplevral peteşiyel kanamalar oluşan kanamalar ve akciğer ödemleri nekropsisi bulguları olarak kayıtlara geçmiştir.

*Salmonella abortus equi* teşhisinde, öncelikle kültürden izolasyon ve serotiplendirme, serolojik yoklamalar, moleküler tiplendirme öne çıkan yöntemlerdir. Başlıca organlardan, akciğer, karaciğer, dalak ve özellikle plasenta kullanılmaktadır (Madic,2010). Kültürden izolasyonda, salmonella teşhisinde kullanılan besiyerleri dışında özellikle at kanı eklenmiş 7% Columbia agar önerilmektedir. Bu izole edilen bakteriler standart bakteriyolojik prosedürlerden biyokimyasal testlere tabi tutulmaktadır (Brenner 1984). Serotiplendirmede, Kauffman white şemasına göre incelenen *S. Abortus equi* için, O ve H antiserumları kullanılmaktadır (Madic,2010).

Serolojik testlerden, şu an ülkemizde de uygulanan prosedürlere göre serum aglütinasyon test yöntemi kullanılmaktadır. Bu sebeple at kan serumlarında, serum aglütinasyon testi uygulanarak, pozitif veya negatif olarak değerlendirilip sonuç verilmektedir. Bunun dayanağı olarak, genel kanıda *S. Abortus equi* antijeni genellikle sağlıklı kişilerde saptanamaz ve hayvanlarda bu antikörlerin varlığı aktif enfeksiyonun göstermektedir diye bildirilmektedir. Bununla birlikte, zaman zaman elde edilen izolatlardan hareketli serovarlar da tespit edilmiş ve bu ifadeyi desteklememektedir. Şöyleki, hareketsiz serovarların H aglütininin üretimi ile ilgili yanlış negatif sonuçlar ortaya çıkabilmektedir. *Salmonella abortus equi* için tiplendirme yöntemleri hareketsiz suşlar ile hareketli olanların ayırt edilmesinde kullanılabilir. Özellikle bu ayırımın hassasiyetle uygulanması gerekmektedir (Helmuth et al. 1990; Olsen et al. 1993). Bunun yanı sıra hücre paterni analizi ile hareketsiz suş, hareketli olanlardan tamamen ayırt edilebilmektedir (Madic,2010). Atlarda abortların etiyolojisi ile ilgili olarak, *S. Abortus equi* taşıyıcıları ile enfeksiyonun tam olarak teşhisi yapılamaması artan vakalara sebep olabilmektedir (Swerczek 1991b). Teşhis yöntemlerinin ivedilikle konfirmasyon testlerinin beraber yürütüldüğü

karşılaştırmalı test metodları ile ekonomik hızlı ve en güvenilir sonuca ulaşarak enfeksiyonların önüne geçmenin mümkün olabileceği önerilmektedir.

#### KAYNAKLAR

- Singh, I. P., Sharma, V. K., & Kaura, Y. K. (1971). Some aspects of the epidemiology of Salmonella abortus-equi infection in equines. *British Veterinary Journal*, 127(8), 378-383.
- Madić, J., Hajsig, D., Sostari, B., Ćurić, S., SEOL, B., Naglić, T., & Cvetnić, Z. (1997). An outbreak of abortion in mares associated with Salmonella abortusequi infection. *Equine veterinary journal*, 29(3), 230-233.
- Swerczek, T.W. (1991a) Identifying the bacterial causes of abortion in mares. *Vet Med*. 86, 1210-1216.
- Swerczek. T.W. (1991b) The most common viral causes of equine abortion. *Ver. Med*. 86, 1205- 1208.
- Olsen, J.E., Brown, D.J., Skov, M.N. and Christensen, J.P. (1993) Bacterial typing methods suitable for epidemiological analysis. Applications in investigations of salmonellosis among livestock. *Ver. Quarterly* 15, 125-135.
- Hong, C.B., Donahue. J.M., Giles, R.C. Jr., Peaites-Murphy. M.B., Poonacha, K.B., Roberts, A.W., Smith, B.J., Tramontin. R.R., Tuttle, P.A. and Swerczek, T.W. (1993) Equine abortion and stillbirth in central Kentucky during 1988 and 1989 foaling season. *J. vet. Diagn. Invest.* 5,560-566.
- Brenner, D.J. (1984) Facultatively anaerobic gram-negative rods In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol 1. Eds: N.R. Krieg and J.G. Holt. Williams & Wilkins, Baltimore, London. pp 408-516.
- Bryans. J.T., Fallon, E.H. and Shephard. B.P. (1961) Equine salmonellosis. *Cornell Vet.* 51, 467-477.
- Condoleo, R., Roperto, F., Amaddeo. D., Guarino, G., Fontanelli. G. and Troncone. Morse, E.V., Duncan, M.A., Fessler, J.F. and Page, E.H. (1976b) The treatment of salmonellosis in Equidae. *Mod. vet. Pracr.* 57, 47-51.



**İPEK BÖCEĞİNİN TÜRKİYE İÇİN DURUMU VE ÖNEMİ**  
**THE SITUATION AND IMPORTANCE OF SILK FISH FOR TURKEY**

*Ferhat Mazlum ODUNCU*

*Yüksek lisans(Mastr), Dicle üniversitesi, Ziraat fakültesi, Zootekni, Diyarbakır, Türkiye*

*Muzaffer DENLİ*

*Prof. Dr., Dicle üniversitesi, Ziraat fakültesi, Zootekni, Diyarbakır, Türkiye*

**ÖZET**

İpek böceği yetiştiriciliği geçmişten günümüze kadar dünya ekonomisinde önemli bir yere sahiptir. İpek böceği ilk olarak 4000 yıl önce Çin’de keşfedilmiştir. Ayrıca, Çin tarafından uzun yıllar büyük bir sır olarak saklanmıştır. Dünyada, 30 ülke tarafından 173 000 tonun üzerinde ipek üretimi gerçekleştirilmektedir. Dünya piyasalarında en büyük pazar payına sahip olan ülke ise Çin’dir. Çin ipek üretimi ve ham ipek ihracatında dünyada 1. sırada yer almaktadır. FAO verilerine göre 2019 yılında 136 000 ton ipek üretimi ile dünya ipek üretiminin yaklaşık %80’ini gerçekleştirmiştir. İpek böcekleri diğer tarımsal faaliyetler dışında ek bir gelir kaynağı sağlayan yardımcı bir tarımsal faaliyettir. Türkiye de yapısı ve konumu itibarıyla ipek böceği yetiştiriciliği için oldukça elverişlidir. Yetiştiricilikte üretim araçlarının son derece basit olması, Koza ürününün 35-40 gün gibi kısa bir sürede elde edilebilmesi ve destekleme kapsamında olması ve hemen paraya dönüştürülebilmesi avantajı vardır. Ülkemizde koza üretiminden başlayarak ipek halı satışına kadar halen on binlerce kişi istihdam edilmekte olup, sadece yaş koza üretiminde yaklaşık 3.000-3.500 aile işletmesi yer almaktadır. Ayrıca günümüzde ipek ve ürünleri sadece tekstil sanayinde kullanılmasının yanı sıra ipekböceği ve ipek çeşitli biyolojik çalışmalarda, sağlıkta kullanılmaktadır. Türkiye’de Güneydoğu Anadolu ve Akdeniz Bölgesi’nde ipek böcekçiliği faaliyetleri sürdürülmektedir. 2019 yılında yaş koza üretiminde Diyarbakır 47 ton koza üretimi ile ilk sırada yer alırken bunu Antalya, Bilecik Sakarya, Eskişehir ve Bolu illeri izlemektedir. Türkiye’de 2021 yılında 665 köyde/mahallede 2 021 üretici tarafından yaş koza üretimi yapılmaktadır. Türkiye’de bu alanda faaliyet gösteren üreticilerin bilinçlendirilmesi ve bilgi eksikliğinin giderilmesi gerekmektedir. Verilen destek ve teşvikler ile birlikte yeni istihdam alanları yaratılarak sektör politikaları geliştirilmesi sağlanmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** İpek böceği, İpek böceği buluşu, İpek böceği Türkiye de durumu ve önemi

**ABSTRACT**

Silkworm breeding has an important place in the world economy from the past to the present. The silkworm was first discovered in China 4000 years ago. In addition, it has been kept a great secret by China for many years. More than 173,000 tons of silk are produced by 30 countries in the world. The country with the largest market share in world Sundays is China. China ranks 1st in the world in silk production and raw silk exports. is ranked. According to FAO data, it realized approximately 80% of the world's silk production with 136,000 tons of silk production in 2019. Silkworms are an auxiliary agricultural activity that provides an October income source apart from other agricultural activities. Turkey is also very suitable for silkworm breeding due to its structure and location. It has the advantage that the means of production in cultivation are extremely simple, the Cocoon product can be obtained in a short time such as 35-40 days, and it is within the scope of support and can be converted into money immediately. Tens of thousands of people are still employed in our country, starting from cocoon production to silk carpet sales, and only about 3,000-3,500 family enterprises are involved in wet cocoon production. In addition, today, silk and its products are used not only in the textile industry, but also silkworm and silk are used in various biological studies, in health. Silkworm breeding activities are continuing in Southeastern Anatolia and Mediterranean Region in Turkey. in 2019, Diyarbakir ranked first in the production of wet boll with 47 tons of boll production, followed by Antalya, Bilecik Sakarya,

Eskişehir and Bolu provinces. In Turkey, wet cocoon production is carried out by 2,021 producers in 665 villages / neighborhoods in 2021. It is necessary to raise the awareness of the producers operating in this field in Turkey and to eliminate the lack of information. Along with the support and incentives provided, new employment areas should be created and sector policies should be developed.

**Keywords:** Silkwoem, Invention of silkworm, status and importance of silkworm in Turkey

## GİRİŞ:

İpek böceği, Bombycidae familyasından (*Bombyx mori*), dut yaprağı ile beslenen kelebeğin tırtılı olup, Dünya üzerinde M.Ö. 2600 yıllarından itibaren kullanılan önemli ve pahalı bir dokuma sanayi hammaddesi olan ipeği üretmektedir (Şahinler ve Şahinler, 2002; Yurt oğlu, 2017). *Bombyx Mori* L cinsi ipek böceği diğer türler arasında en iyi ipek üreten en özel cinstir (İmer, 2005). Türkiye'nin bulunduğu coğrafyada yaklaşık 1500 yıldır sürdürülen ipek böceği yetiştiriciliği dut ağacı yetiştirilmesi, ipek böceği tohumu ve yaş koza üretimi ve kozadan iplik çekilmesi aşamalarından oluşmaktadır (Anonim 2020a). Türkiye, dut ağacı ve ipek böceği yetiştiriciliği için elverişli bir yapıya sahiptir ve ipek böcekçiliği dut ağacının yetiştirildiği her yerde yapılabilir (Barıtcı ve ark., 2017; Anonymous, 2019; Camuz ve Gül, 2022). İklim ve toprak isteği bakımından hassas olmayan dut ağacı Türkiye'nin çok yüksek ve soğuk yerleri hariç hemen her yerinde kolayca yetişebilmektedir (Tuigong ve ark., 2015). İpek böcekçiliği, dutun yetiştirilmesinden ham ipek elde edilmesine kadar geçen bütün aşamaları içeren bir faaliyettir (Günbulut, 2013; Davulcu, 2018). İpek böcekçiliği, fazla yatırım ve sermaye gereği duymadığından, üreticiler bakımından alternatif gelir kaynağı oluşturarak kırsal alanlarda işsizliği ve köyden kente göçü engellemektedir (Şahinler ve Şahinler, 2002; Taşkaya Top, 2011)

## TÜRKİYE'DE İPEK BÖCEKÇİLİĞİNİN MEVCUT DURUMU

Türkiye için oldukça eski bir faaliyet olan ipekböcekçiliği, M.S. 149'da Türkistan Hotan eyaleti hakanının bir Çin prensesi ile evlenmesi sonucunda önce Hotan'a, daha sonra İran'ın doğusuna doğru yayılmaya başlamış ve M.S. 500 yıllarında Bizans İmparatoru Jüstinyen zamanında Türkiye'ye girmiştir (Çolak, 2002). Cumhuriyetin ilanından sonra, 1926 yılında 859 sayılı kanunla Türkiye'de tohum üretimi, ipekböceği bakım ve beslemesi ile ilgili hususlar hukuki teminat altına alınmıştır. İpekböceği yetiştiriciliğinin Türkiye'de ilmi esaslar dâhilinde yapılması, 1988 yılında Bursa İpekböcekçiliği Araştırma Enstitüsü'nün kurulmasıyla başlamaktadır (Kozabirlik 2014/a). Bursa İpekböcekçiliği Araştırma Enstitüsü 31.12.2004 tarihine kadar ipekböcekçiliği ile ilgili tek kamu kuruluşu olarak faaliyetlerini yürütmüştür. Ancak; söz konusu enstitünün kapatılmasından sonra bu kuruluşun başlıca görevleri arasında yer alan ipekböcekçiliği ile ilgili ARGE faaliyetlerini yürütme, dut ve tohum gen kaynaklarını muhafaza etme, ihtiyaç oranında ipekböceği tohumu ve dut fidanı yetiştirme, eğitim faaliyetleri gerçekleştirme ile ilgili iş ve işlemler, GHTB'na tahsisli enstitü tesislerini kullanarak kozabirlik tarafından sürdürülmektedir (GTHB, 2014). Yardımcı bir tarımsal faaliyet olarak yapılan ipekböceği yetiştiriciliği, ilkbahar ve sonbahar dönemleri olmak üzere yılda 2 defa yapılabilmesine rağmen, ekonomik açıdan daha verimli olduğu için Türkiye'de sadece ilkbaharda gerçekleştirilmektedir. (Berrin ve ark., 2015) Çok fazla yatırım gerektirmeyen ipekböceği yetiştiriciliği, arazinin diğer tarımsal faaliyetlerin yapılmasına uygun olmadığı yörelerde, ek gelir sağlama, gizli işsizliğin önlenmesi, 35-40 gün gibi kısa bir sürede ürün elde edilebilmesi ve nakite dönüştürülebilme. Ancak, bitkisel üretimde aşırı ve bilinçsiz zirai ilaç kullanımı, sanayileşme, kentleşme ve özellikle genç nüfusun kentlere göç etmesi gibi nedenlerden dolayı giderek gerileme göstermiştir. İpekböceği yetiştiriciliğinde ilk gerileme, 1990 yılında yaşanan Körfez krizi ve Sovyetler Birliği'nin dağılması ile başlamış ve 1990 yılından 2006 yılına kadar yaş koza üretimi %94 oranında azalma göstermiştir (Tatlıldil, 2008).

**Tablo 1.** Türkiye ipek böcekçiliği verilerinin değişimi

Yıllar	Köy sayısı	Hane sayısı	Açılan kutu sayısı	Yaş ipek kozası
2015	474	1956	4674	115
2016	576	2001	5303	103
2017	659	2128	5686	102
2018	693	2210	6238	94
2019	675	2062	5890	90
2020	662	1965	5775	90
2021	665	2021	6029	76

**Kaynak: TÜİK, 2022**

**Tablo 2.** Türkiye’de ipek böcekçiliğinin bölgelere göre dağılımı

Bölgeler	İşletme Sayısı		Köy sayısı	
	2020	2021	2020	2021
Akdeniz	364	311	146	134
Ege	271	239	128	123
Güneydoğu Anadolu	252	1018	154	170

**Kaynak: TÜİK,2022**

Tablo 2 de görüleceği üzere Güneydoğu Anadolu bölgesinde artış gözlemlenmektedir. Özellikle bu bölgede bulunan Diyarbakır da araştırmalar sonucu artış gözlemlenmiştir. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) 2013 verilerine göre, Türkiye ipekböcekçiliğinde Diyarbakır 47,6 ton ile (%36) yaş koza üretiminde ilk sırada yer almaktadır. İpekböceği konusunda Diyarbakır ilinin Kulp ilçesi (üretim %98’i) başta olmak üzere, Hazro ve Silvan ilçelerinde ipekböceği yetiştiriciliği yapılmaktadır.

**Tablo 3.**Diyarbakır ilçelere Göre İpekböcekçiliği

İlçeler	Açılan kutu sayısı	Yaş koza (ton)
Hazro	22	0,514
Kulp	1860	46,733
Silvan	12	0,402
Toplam	1894	47,649

**Kaynak: Anonim, 2014/e**

## TÜRKİYE’DE İPEK BÖCEKÇİLİĞİNİN ÖNEMİ

Türkiye’de ipekböceği yetiştiriciliği, istihdam ve gelire katkısı açısından kırsal kalkınmanın sağlanması, milli gelire ve ekonomiye katkısı, kültürel mirasını koruma bakımından oldukça önemli bir tarımsal faaliyettir ve bu nedenden dolayı üretiminin devamlılığının sağlanması gerekmektedir. Bunun yanı sıra; Kırsal kesimlerde kadın ve yaşlı iş gücünden yararlanmak, tarım yapılamayan ya da kısıtlı olduğu bölgeler de göçü ve işsizliği engellemek, küçük aile işletmelerine gelir kaynağı sağlamak, kırsal alanlarda el sanatlarına dayalı gelir sağlamak gibi istihdama katkı sağlayan tarafları ve bunun yanı sıra gelire katkı sağlaması için nedenlerde vardır bunlar; 35-40 gibi kısa sürede ek gelir getirmesi( belli aylarda yapıldığını göz önüne alınca),atıl dönemi değerlendirdiği için diğer üretim faaliyetlerine finansman kaynağı sağlar. İpek böcekçiliğinin peki ülkemize kattıkları nelerdir; imalat sanayisine katkı sağlar, halı ve ipek ihracatı sayesinde milli gelire katkı sağlar, el sanatları sayesinde turizme katkı sağlar, ipek halıda marka olmamızı sağlar ve son olarak kültürümüzü koruyup gen kaynaklarımıza katkı sağlar.

**Tablo 4.** Türkiye'nin ipek böceği koza ihracatının yıllar itibariyle değişimi

Yıllar	İhracat miktarı (ton)	İhracat değeri (bin \$)
2010	11	382
2011	2	31
2012	20	666
2013	8	361
2014	0	0
2015	5	64
2020	81	451

**Kaynak: FAO, 2022**

Tabi tabloya bakıldığında ipek böceği koza ihracatında dalgalanmalar görünmektedir. Tabi bunun yanında desteklemeler ve bilinçlenmeler sayesinde artış görülmektedir FAO 2022 yılı verilerine göre 14 ton ihracat miktarına ulaşarak, 2020 yılında 5 katından fazlasına çıkarak 81 tona yükselip %74 bir artışla \$451 000 seviyesine çıkmıştır. Türkiye de koza ithalatı yok denecek derecededir.

**SONUÇ**

Türkiye de bu alanda tablolarda görüldüğü üzere dalgalanmalar var bazı yıllar yok denecek kadar ihracatımızı yok ama son yıllarda desteklemelerle, bu işi yapmak isteyenlerin bilinçlenmesi ve coğrafyamızın hemen yerde sadece çok yüksek ve soğuk yerlerde yapılamadığını ancak bu yerler dışında her yerde yapıldığı bir tarımsal faaliyet, yan ek iş olarak yapılabildiğini bu derlemede görüyoruz. Tabi bunların yanı sıra başka tarımsal faaliyetleri de yapmamıza engel olmadığını sadece belli aylarda yapıldığını da görebiliriz. Yaptığım araştırmalar sonucunda Çin bu alanda tekelleşmek istiyor coğrafyamızın uygunluğu, desteklemelerin artması ve bu alana yönelecek insanları bilinçlendirirsek bizde bu alanda daha da ilerleme kat edebiliriz.

**KAYNAKÇA**

Ağırhan, M. (2016) Cumhuriyet Döneminde Edirne'de İpek Böcekçiliği. Electronic Journal of Vocational Colleges-May/Mayıs 2016.

FAO (2022) Food and Agriculture Organization, Erişim linki: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> Erişim tarihi:12.12.2022

TÜİK (2022) Türkiye İstatistik Kurumu, Erişim linki: <https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=tarim-111&dil=1> Erişim tarihi:11.12.2022

Barıtcı İ, Adıgüzel C, Kanat M 2017. Diyarbakır İlinde İpekböceği Yetiştiriciliğinin Genel Durumu. Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 6(2): 77-82.

Anonim, 2014b. <http://www.diyarbakir.gov.tr>, Erişim tarihi:04.08.2014

Anonim, 2011. T.C. Bursa Valiliği 2011 Yılı İl Çevre Durum Raporu. T.C. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı Bursa Çevre ve Şehircilik İl Müdürlüğü, Bursa.

Altun, D., 2007. "XIX. Yüzyılda Bursa'da İpekböcekçiliği", Balıkesir Üniversitesi F.E.F. Karesi Tarih Kulübü Bülteni, 2007/1, Balıkesir

Turhan, Ş., Şahan, Ü. (2020) Türkiye İpekböcekçiliğinde Kadının Rolü ve Önemi. Bursa Uludağ Üniv. Ziraat Fak. Derg., 34(2), s. 325-335.

**A NEW GENERATION ALTERNATIVE FOR REPRODUCTION MANAGEMENT and  
CONTROL IN DOGS - GnRH AGONIST IMPLANTS**  
**KÖPEKLERDE ÜREME YÖNETİMİ ve KONTROLÜ İÇİN YENİ NESİL ALTERNATİF-  
GnRH AGONİSTİ İMPLANTLAR**

**Muhammet Ali KARADAĞ<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Kars, Türkiye.*

<sup>1</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1791-9588>*

**Duygu KAYA<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>*Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Kars, Türkiye.*

<sup>2</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9052-5924>*

**ABSTRACT**

Control of the estrous cycle plays an important role in the control of reproduction in dogs and there is a unique sexual cycle physiology that makes breeding techniques used in farm animals unsuccessful in this breed. Although surgical sterilization has been used as the first choice for the control of reproduction for many years, its long-term side effects such as urinary incontinence, joint problems, and increased incidence of tumors of the non-reproductive tissues have been the subject of discussion frequently in recent years. Deslorelin acetate implant (Suprelorin®) is a slow-release, long-acting potent GnRH agonist and is considered safe in most species where it is used, including humans. After subcutaneous administration, it is released continuously at low doses, thus masking the natural GnRH pulses from the hypothalamus. Thus, the hypothalamus-pituitary-gonadal axis is suppressed. The most important advantage is that the effect is reversible and the duration of the effect can be extended with repeatable applications. The implant was first registered for the control of reproduction in male dogs and later it was started to be used in female dogs as well. Deslorelin acetate has been the subject of an increasing number of studies in recent years on the prevention and delay of puberty in dogs. Studies at the clinical and molecular level in this area indicate that Deslorelin implant may be a safe option for the prepubertal period. In conclusion, although Deslorelin implant is a valuable future alternative in the management and control of estrus in dogs, new research is needed to reveal the possible long-term side effects of its prepubertal use and repetitive applications.

**Keywords:** Dog, control of reproduction, GnRH agonist, Deslorelin

**ÖZET**

Köpeklerde üremenin denetlenmesinde östrus siklusunun kontrolü önemli bir yere sahiptir ve çiftlik hayvanlarında kullanılan üreme tekniklerini bu türde başarısız kılan benzersiz bir seksüel siklus fizyolojisi söz konusudur. Cerrahi yöntemle yapılan kısırlaştırma üremenin denetlenmesinde uzun yıllardır birinci seçenek olarak kullanılmakla birlikte son yıllarda üriner inkontinens, eklem problemleri, reproduktif organlar dışındaki tümör insidansında artış gibi özellikle uzun vadeli yan etkileri sıkça tartışma konusu olmaktadır. Deslorelin asetat implant (Suprelorin®), yavaş salınan uzun etkili güçlü bir GnRH agonistidir ve insan dahil kullanıldığı pek çok türde güvenli olduğu kabul edilmektedir. Derialtı uygulamadan sonra, düşük dozlarda sürekli olarak salınır ve böylece hipotalamustan gelen doğal GnRH atımlarını maskeler. Böylece Hipotalamus-hipofiz-gonadal ekseninin baskılanması sağlanır. En önemli avantajı etkisinin geri dönüşümlü olması ve tekrarlanabilir uygulamalarla etki süresinin uzatılabilmesidir. İmplant ilk olarak erkek köpeklerde üremenin kontrolü için tescil edilmiş ve daha sonra dişi köpeklerde de kullanılmaya başlanmıştır. Deslorelin asetat, son yıllarda köpeklerde pubertanın engellenmesi ve ertelenmesi alanında artan sayıda çalışmanın konusu olmuştur. Söz konusu alanda yapılmaya başlanan klinik ve moleküler düzeydeki araştırmalar Deslorelin implantın prepubertal

dönem için de güvenli bir seçenek olabileceğini işaret etmektedir. Sonuç olarak köpeklerde östrusların yönetimi ve kontrolünde Deslorelin implantın geleceğe yönelik değerli bir alternatif olmakla birlikte özellikle puberta öncesi kullanımı ve tekrarlayan uygulamalarının muhtemel uzun dönem yan etkilerinin ortaya konulabilmesi için yeni araştırmalara ihtiyaç vardır.

**Keywords:** Köpek, üreme kontrolü, GnRH agonisti, Deslorelin

## 1. GİRİŞ

Mevsime bağlı olmayan monoöstrik hayvanlar olan köpeklerin siklus özellikleri; spontan ovulasyon göstermeleri, lüteal evrenin uzun olması ve uzun bir anöstrus dönemine sahip olmaları gibi birçok yönüyle diğer evcil hayvan türlerinden farklıdır (Concannon 2011).

Bir dekapeptit olan GnRH'nın pulzatil salınımı memelilerde üreme fonksiyonlarının başlaması ve sürdürülmesinde temel rol oynar. Doğal GnRH'nın yapısında bulunan aminoasitlerden 1, 2, 3, 6 ve 10 numaralı olanların seksüel siklus fizyolojisinde önemli fonksiyonlarda görev aldıkları bilinmektedir. Gonadotropin salınımında 2 ve 3'üncü pozisyondaki aminoasitler, enzimatik yıkımlanmada pozisyon 6'daki aminoasitler ve üç boyutlu yapının korunmasında ise pozisyon 1, 6 ve 10'daki aminoasitler görev alırlar. GnRH agonistleri bu aminoasitler üzerinde yapılan değişiklikler ile üretilmektedirler. Doğal GnRH'ya göre yarılanma ömrü daha uzun olan GnRH agonistlerinin üretilmesinde C terminaline glisinamid yerleştirilmesi veya 6 numaralı aminoasidin pozisyonunun değiştirilmesi, 9 numaralı aminoasidin alkilasyonu ya da 10 numaralı aminoasidin silinmesi gibi farklı formülasyonlar kullanılmaktadır (Kutzler ve Wood 2006, Gobello 2012).

GnRH agonistleri veteriner hekimlikte yaygın olarak kullanılmaktadır. Etki biçimleri tedavi koşullarına bağlıdır; kısa süreli uygulamalarının ardından doğal GnRH salınımında olduğu gibi, reseptörlerin aktivasyonunu sağlayarak hipofiz gonadotropinlerinin (FSH ve LH) salınımını uyarır. Böylece gonadal steroid konsantrasyonu yükselir ve bu durum dişilerde östrus indüksiyonu, erkeklerde ise libido artışı olarak gözlenen ve geçici bir östrus uyarımı olarak tanımlanabilecek "flare-up" ile sonuçlanır (Borges ve ark. 2015) Söz konusu flare-up aşamasını, tüm reproduktif foksiyonu kesintiye uğratan uzun süreli bir hipofiz işlevi bloğu ile hipofiz GnRH reseptörlerinin down regülasyonu izler.

Diğer bir ifade ile agonistlerin uzun süreli kullanımı gonadotropik hücrelerin sekonder desensitizasyonuna yol açarak FSH ve LH salgılanmasını önler ve hipofiz-gonadal aksı "susturur" (D'occhio ve ark. 2000, Trigg ve ark. 2001, Fontbonne ve Maenhoudt 2021). Bu desensitizasyon, LHβ ve FSHβ alt birimlerinin mRNA sentezini baskılayan bir post-reseptör mekanizmadan kaynaklanmaktadır (Aspden ve ark. 1997, Fontbonne ve Maenhoudt 2021). Bu şekilde hipofizin GnRH'ya cevabı engellenerek gonadal steroidlerin konsantrasyonunda azalma sağlanır, foliküler gelişim engellenir ve FSH sekresyonu baskılanır (Schäfer-Somi ve ark. 2014). Ayrıca, GnRH agonistinin sürekli olarak kullanımı erkek köpeklerde Leydig hücrelerinin LH'ye duyarsızlaşmasına neden olmaktadır (Junaidi ve ark. 2007).

Seksüel siklusun baskılanmasında kullanılan kontraseptif ajanların önemli bir bölümü hormonlara bağlı yan etkilere neden olduğu için son yıllarda yerini GnRH agonistlerine bırakmış ve bu alanda istenilen sonuçlar elde edilmiştir. GnRH agonistlerinin deri altı implant veya kas içi depo enjeksiyonları olarak kullanılabilen uzun etkili formülasyonlarının yanında, kısa etkili günlük enjeksiyonlarla uygulanabilen formülasyonları da bulunmaktadır. Veteriner hekimliği alanında en sık kullanılan agonistler; leuprorelin, buserelin, nafarelin, histrelin, goserelin, triptorelin ve deslorelin'dir (Valiente ve ark. 2009, Gobello 2012). Üçüncü nesil, yavaş salınan uzun etkili bir GnRH agonisti olan Deslorelin implant, 15 yıldan fazla süredir erkek ve dişi köpeklerde rutin klinik uygulamalarda ve araştırmalarda kullanılmaktadır. İlk kez 2002 yılında Avusturalya'da erkek köpeklerde kontrasepsiyon amacıyla, daha sonra ise Yeni Zelanda'da kullanılmıştır. Birçok Avrupa birliği ülkesinde 2008 yılından beri ticari olarak bulunmakta ve kullanılmaktadır (Ponglowhapan 2011) ve hem erkek hem de dişi köpeklerde pubertanın ertelenmesinde ve östrus yönetiminde oldukça başarılı olduğu görülmektedir. GnRH agonistlerinin avantaj ve dezavantajları aşağıdaki tabloda özetlenmiştir (Tablo 1).

**Tablo 1:** Köpeklerde GnRH agonistlerinin avantaj ve dezavantajları (ACC&D raporundan modifiye edilmiştir).

Avantaj	Dezavantaj
Erkek ve dişide fertilitiyi baskılar	Dişide implant yerleştirildikten sonraki iki hafta içerisinde geçici östrus uyarımı
Dişide davranışsal östrus bulguları tamamen ortadan kalkar / erkekte kastre edilmiş köpeklerdekine benzer davranış bulguları mevcuttur	Etkinin sürdürülebilmesi için tekrarlayan uygulamalar gerekli (özellikle ömür boyu kontrasepsiyon taleplerinde)
Depo enjeksiyonları, mikro küreler ve implantlar gibi farklı formülasyonlarda etkilidir	Ticari olarak uygun bir ürünün en az 6-12 ay etkili olması beklenir, sahipsiz hayvanlar için daha uzun etkinlik süresi gereklidir
Geri dönüşümlüdür; etki süresi bittiğinde üreme fonksiyonları devam eder	Yavaş etki etmeye başlaması (genellikle birkaç hafta) ve etki süresinin değişkenliği
Kolay uygulanır ve uygulama yerinde çoğunlukla yan etki yaratmaz	Yan etkiler (kas-iskelet sistemi gelişimi, genital sistem, kısa süreli davranış değişimi, tüy yapısı vb.) gözlenebilir

## 2. KÖPEKLERDE GnRH AGONİSTİ DESLORELİN İMPLANT KULLANIMI

GnRH agonistleri içinde Deslorelin yavaş salımlı implant etkinliği kanıtlanmış bir preparat olarak öne çıkmaktadır. İmplant, köpeklerde subkutan uygulama için 2,3 mm çapında, 12 mm uzunluğunda ve toplam 50 mg ağırlığındaki katı, opak, beyaz ila soluk sarı bir silindir şeklinde üretilmiştir. Suprelorin, aktif madde olarak 5,85 mg/deslorelin asetat %85,5 implant içerir. Yardımcı maddeler hidrojene palm yağı, lesitin ve su bazsız sodyum asetatdır (European Medicines Agency 2010).

Avrupa Birliği'nde veteriner kullanımı için onaylanmış tek uzun etkili GnRH agonisti deslorelin'dir. Diğer uzun etkili GnRH agonisti azagly-nafarelin başarılı bir şekilde uygulanmasına rağmen hiçbir zaman piyasaya sürülmemiştir ve Avrupa Birliği'nde kullanımdan çekilmiştir (Rubion ve Driancourt 2009). Avrupa'da erkek köpeklerde fertilitenin baskılanmasına yönelik ticari üretim izni bulunan iki implant mevcuttur: Suprelorin 4.7 mg<sup>®</sup> ve Suprelorin 9.4 mg<sup>®</sup>. Bu implantların ilki için minimum 6 ay ve ikincisi için 1 yıl etki süresi belirlenmiştir. Ancak bu iki üründe implant matrisinden ilk salım kinetiği farklıdır ve 4,7 mg implant ile fertilitiyi baskılama etkisi 9,4 mg implanttan daha hızlı elde edilir. Bu nedenle, tekrarlanan implant uygulamaları yapılması planlanıyorsa ilk implant uygulamasının 4,7 mg implant ile yapılması ve ardından 6 ay sonra 4,7 veya 9,4 mg implant ile isteğe bağlı yeniden uygulama (re-implantasyon) önerilmektedir. Böylece köpek, teorik olarak, her yıl yeniden implant uygulanarak hayatı boyunca "kimyasal olarak" kısırlaştırılabilir (Fontbonne ve Maenhoudt 2021).

Üretici firma implantların biyo uyumlu olduğunu, zamanla tamamen emileceğini ve bu nedenle implantın çıkarılmasına gerek olmadığını belirtmektedir ancak uygulamadan sonra implantın çıkarılması sorunu hala tartışmalıdır (Kutzler ve ark. 2009). Yine de özellikle östrus indüksiyonu amacıyla uygulanan implantların tedavi sonrası çıkartılması planlandığında, implantın göbek bölgesi gibi kolaylıkla çıkarılabileceği bir yere yerleştirilmesi önerilir. Genel olarak, implant uygulama alanları iki skapula arası, vestibüler mukoza, göbek bölgesi ve arka bacakların içi olarak önerilir (Kaya ve Ay 2017).

### 2.1. Deslorelin İmplantın Dişi Köpeklerde Kullanımı

Deslorelin başlangıçta erkek köpeklerde kullanılmak üzere geliştirilse de daha sonra dişi köpeklerde de uygulanmıştır. Kullanım alanları şu şekilde özetlenebilir: pubertanın ertelenmesi, östrus siklusunun kontrolü, ovaryohistektomiden sonra gözlenen üriner inkontinansın tedavisi, agresif davranışların azaltılması ve fertilitenin geçici olarak engellenmesi. Ayrıca, meme tümörlerinde metastazdan korunmada da kullanılabileceği bildirilmektedir (Romagnoli ve ark. 2009, Marino ve ark. 2014).

GnRH analoglarının uygulanmasını takiben östrus ve ovulasyon uyarılabilir ve gonadal supresyon izleyen 7-14 gün içerisinde şekillenir (Lucas 2014). Deslorelin implant kullanılarak yetişkin köpeklerde östruslar farklı sürelerde (2-27 ay) baskılanabilmektedir (Sung M. ve ark. 2006, Trigg ve ark. 2006, Maenhoudt ve ark. 2012). Anöstrus döneminde köpeklere yapılan uygulamalarda östruslerin %100 oranında uyarıldığı bildirilmiştir. Dolayısı ile yetişkin dişi köpeklerde GnRH agonisti Deslorelin implant uygulaması ile fertilitenin hem uyarılması hem de izleyen dönemde baskılanması mümkündür.

Bununla birlikte son yıllarda yoğun olarak pubertanın engellenmesi/ertelemesi ile ilgili olarak yapılan uygulamalarda alınan sonuçlar yetişkin köpeklerdekinden oldukça farklıdır. Pre-pubertal dönemdeki köpeklerde GnRH nöronlarının, hipotalamus hipofizer aksdaki kontrol mekanizmasının olgunlaşmamış olması (Herbison ve Plant 2018) farklı klinik bulgulara yol açar. Yapılan klinik çalışmalar farklı baskılama süreleri ve değişken flare-up bulgularının varlığını ortaya koymuştur (Trigg ve ark. 2006, Kaya ve ark. 2013, Kaya ve ark. 2015, Kaya ve ark. 2017, Schäfer-Somi ve ark. 2022).

Dişi köpeklerde Deslorelin implant uygulanarak indüklenen östrus ve ovaryumdaki foliküler gelişimin detayları hakkında çok az şey bilinmektedir. Bu konudaki güncel bir araştırmada tüm köpeklerde östrus indüksiyonu, deslorelin implant uygulamasından kısa bir süre sonra gerçekleşmiş, AMH konsantrasyonları köpekler arasında büyük farklılıklar göstermiştir. Ovaryumun ultrasonografik muayenesinde, gözlem süresi boyunca folikül gelişimindeki değişiklikler izlenmiş ve deslorelin implant ile tedavi edilen dişi köpeklerin fertilite süresinin, doğal olarak oluşan östruslu köpeklerden daha kısa olduğu belirlenmiştir (Chotimanukul ve ark. 2023).

Araştırmacılar, Deslorelin implantın dişi köpeklerde pubertayı önlemek amacıyla en geç 4-5 aylık olana kadar uygulanması gerektiği konusunda hemfikirlerdir, çünkü daha sonra yapılacak uygulamalar pubertanın uyarılmasına neden olabilir (Trigg ve ark. 2006, Palm ve Reichler 2012, Kaya ve ark. 2013). Kaya ve ark. 2013, pre-pubertal köpeklerde ortalama dört aylık bir dönemde Deslorelin implant uygulamalarının (4,7 ve 9,4 mg) bir "flare-up" cevabı oluşturmadığı ve kısa süreli uygulamalarında herhangi bir klinik yan etki olmadan güvenle kullanılabileceği bildirilmiştir. Bununla birlikte, 7 aylık yavrualarda Deslorelin implant uygulamasından sonraki bir ay içerisinde östrus bulgularının ortaya çıktığı bildirilmiştir (Trigg ve ark. 2006). Kaya ve ark. (2021) tarafından yapılan bir çalışmada ortalama 8 aylık yaşta 15 sağlıklı prepubertal köpeklerin yalnızca 1/3'ü (n=5) implant uygulamasından sonra östrüs göstermiştir.

Gontier ve ark. 2022 yapmış oldukları randomize, plasebo kontrollü çalışmada, 12 ila 18 haftalık ve 4,7 mg deslorelin implant uygulanan prepubertal dişi köpeklerin %98,2'sinin implant uygulamasından 6 ila 24 ay sonra ilk östruslarını gösterdiklerini bildirmişlerdir. Ortalama östrus başlangıcı, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 160 gün önemli ölçüde gecikmiş ve 16 haftalık olana kadar implante edilen dişi köpeklerde indüklenmiş östrus da dahil olmak üzere hiçbir yan etki gözlenmemiştir. Uzun vadede (ilk östrusun ortaya çıkmasından iki yıl sonrasına kadar) toplanan fertilite verileri, deslorelin implant uygulanan dişi köpeklerin fertilitelerini geri kazandıkları, düzenli östrus döngüleri sergiledikleri, gebe kalabildikleri ve doğum yapabildikleri hipotezini desteklemektedir. Bu nedenle, prepubertal dönemdeki dişi köpeklere 4,7 mg deslorelin asetat implant uygulaması östrusun başlamasını ertelemek için etkili ve güvenli bir seçenek olmasının yanı sıra, geri dönüşümlü bir çözüm önerisi olarak hayvan sahiplerine bilinçli bir karar vermeleri için daha fazla zaman sağlarken genç yaşta gebelik riskini de ortadan kaldırır.

Deslorelin implant uygulaması sonrasında az sayıda ve sıklıkla görülmeyen (ovaryum kistleri, uzamış östrus, uterus patolojisi, idrar kaçırma, foliküler anormallikler, juvenil vajiniti, laktasyon stimülasyonu, kusma, sistit ve alerjik reaksiyonlar) gibi çeşitli yan etkiler görülebilmektedir. Deslorelin implant çok sayıda araştırmacı tarafından güvenli ve etkili bir yöntem olarak sunulmuştur (Romagnoli ve ark. 2009, Arlt ve ark. 2011, Palm ve Reichler 2012, Kaya ve ark. 2015).

Deslorelin implant uygulanacak köpeklerde uygulama öncesi kapsamlı bir klinik muayene yapılmalı, uygulamanın ardından düzenli aralıklarla jinekolojik muayeneler tekrarlanmalıdır. Hayvan sahipleri, endikasyon dışı kullanım ve olası yan etkilerin klinik belirtileri hakkında tam olarak bilgilendirilmelidir (Brändli ve ark. 2021).



## 2.2. Deslorelin İmplantın Erkek Köpeklerde Kullanımı

Dişilerdekine benzer şekilde erkek köpeklerde de deslorelin implant uygulaması sonraki birkaç gün ile iki hafta arasında testosteron konsantrasyonunun aniden arttığı bir flare-up etkisine neden olur (Balogh ve ark. 2021, Romagnoli ve ark. 2012). Takip eden süreçte GnRH süperagonistlerine uzun süre maruz kalınması hipofiz gonadotropolarının desensitizasyonu ve LH'nin reseptörü ekspresyonunun down regülasyonu yoluyla testislerin LH'ye duyarsızlaşmasına neden olmaktadır (Junaidi ve ark. 2007, Navarro ve Schober 2012, Fontbonne ve Maenhoudt 2021). Aspermi ve tam baskılama genellikle 2-12 hafta içinde (Junaidi ve ark. 2007, Romagnoli ve ark. 2012, Müller ve ark. 2018), spermatogonia/primer spermatozoidler ve seminifer tübül atrofik düzeyinde spermatogenik duraklamanın bir sonucu olarak gözlenir (Junaidi ve ark. 2009, Goericke-Pesch ve ark. 2009). Köpeklerde, deslorelin implantı ile spermatogenik arrest ve testiküler downregülasyon süresinin doza bağlı olduğu gösterilmiştir (Trigg ve ark. 2001, Trigg ve ark. 2006, Junaidi ve ark. 2009). Prepubertal dönemdeki erkek köpeklerde deslorelin implant uygulamasının pubertanın başlangıç zamanında bir gecikmeye yol açtığı bildirilmiştir (Sirivaidyapong ve ark. 2012).

GnRH agonisti yavaş salınan implantlar testosterona bağlı/etkilenen seksüel davranışları baskılar; libido, hiperseksüalite, erkekler arası baskınlık ve aşırı idrar işaretlemesini azaltır ve spermatogenez üzerindeki etkileri tamamen geri dönüşümlüdür (Goericke-Pesch 2017). Kastrasyona tıbbi bir alternatif olarak deslorelin implantı tercih eden erkek köpek sahiplerine net tavsiyelerde bulunulması önemlidir. Tedavi edilen erkek köpekleri fertil dişilerle birlikte barındıran evcil hayvan sahipleri, bireysel değişkenlik ve 4,7 mg deslorelin implant ile tedaviden sonraki altı ay içinde fertil çiftleşmelerin oluşabileceği konusunda bilgilendirilmelidir (Stempel ve ark. 2022).

GnRH agonisti olan deslorelin implantın erkek köpeklerde kullanımında testis fonksiyonunun ve fertilitenin uzun süreli baskılanmasını sağlamak, kastrasyonun etkilerini önceden görmek veya bir erkek köpek yetiştirme kararı için hayvan sahibine zaman kazandırmak gibi farklı talepler söz konusu olabilir. Deslorelin implantlar, uygulandıkları bölgenin seçimi göz önünde bulundurulmak kaydıyla, tedaviyi sonlandırmak ve testis fonksiyonunun yeniden başlamasına yol açan olaylar dizisini başlatmak için cerrahi olarak çıkarılabilir. Deslorelin implantın içerdiği GnRH agonistinin salınımının sona ermesinden sonra testis fonksiyonunun ve semen kalitesinin normal değerlere döndüğü bilinmekle birlikte fertilitenin yeniden başlama süresi değişkenlik göstermektedir. Genel olarak, testislerin tedavi öncesi boyutlarına geri dönmesi yaklaşık 24-26 hafta ve "normal" sperm üretiminin gerçekleşmesi 29-30 hafta sürebilmektedir (Ludwig 2009). Üremenin baskılanmasını sürdürmek için deslorelin implantın 6 aylık (4,7 mg) veya 12 aylık (9,4 mg) aralıklarla yeniden uygulanması önerilmektedir (Trigg 2001, 2006). GnRH agonist implant uygulaması testis boyutunda azalma ve spermatogenik duraklama ile uygulamadan köpekler infertil hale gelir. Normal plazma testosteron konsantrasyonları, köpeklerin %98'inde 18 ayda geri kazanılır ve ömür boyu reimplantasyon mümkündür. Yeniden implantasyon başka bir flare-up etkisinden kaçınmak için tercihen önceki implant etkisinin ortadan kalkmasından önce yapılmalıdır. İmplant işlevinin kaybından sonra, köpeğin tekrar potansiyel olarak fertilitenin olabilmesi için sperm kalitesinin tamamen yenilenmesi genellikle 1-2 ay sürer (Fontbonne ve Maenhoudt 2021).

Erkek köpeklerde deslorelin implant tedavilerinin klinik ve endokrin sonuçları iyi bilinmesine rağmen, testisteki lokal düzenleyici mekanizmalar ve moleküler değişiklikler hala tam olarak anlaşılamamıştır. Steroidojenik akut düzenleyici protein (STAR), çeşitli dokularda steroid hormon biyosentezinin ana düzenleyicisi olarak tanımlanmıştır (Manna ve ark. 2016). Erkek köpeklerde GnRH süperagonist tedavisi, diğer steroidojenik enzimlerin aşağı regülasyonu ile birlikte testislerde azalmış STAR ekspresyonu ile sonuçlanmıştır ve yapılan tedavinin sonunda artarak steroidogenezin yeniden başlamasını sağlamıştır (Gentil ve ark. 2012, Goericke-Pesch ve ark. 2013). Gram ve ark. 2022 yapmış oldukları çalışmada normal yetişkin, prepubertal ve deslorelin ile tedavi edilen yetişkin köpeklerin GnRH süperagonisti ile indüklenen testis down regülasyonu sırasında bir antioksidan enzim sisteminin varlığının, geçici baskılama sırasında spermatogonia ve Sertoli ve Leydig hücrelerini serbest radikal aracılı hasardan korumaya hizmet edebileceğini ve ayrıca deslorelin implantın etkisi sona erdikten sonra normal spermatogenez ve steroid hormon üretiminin yeniden başlayabileceğini bildirmişlerdir.

### 3. SONUÇ

Köpeklerde son yıllarda cerrahi yönteme önemli bir alternatif olarak kabul gören ve hayvan sahipleri tarafından sıklıkla tercih edilen medikal kontrasepsiyon yöntemleri, üremenin denetlenmesi ve popülasyon kontrolü, uygulama kolaylığı ve hayvan refahı yönünden önemli avantajlar sunmaktadır. Medikal kontraseptif ajan olarak yeni nesil GnRH agonisti implant Deslorelinin hem erkek hem de dişi köpeklerde üremenin denetlenmesinin yanı sıra; pubertanın ertelenmesi, ovaryohistektomi operasyonu sonrası gözlenen üriner inkontinansın tedavisi, prostat hiperplazisi, üreme kaynaklı davranış bozuklukları, dermatolojik problemler gibi pek çok alanda kullanımı söz konusudur. Geri dönüşümlü etkisi ve bildirilen yan etkilerinin düşük oranda olması önemli bir avantaj olarak görülmekte, köpeğin yaşamı boyunca tekrarlanan implant uygulamaları ile kronik bir tedavi için seçilebilecek güvenli bir ilaç olduğu kabul edilmektedir. Yine de uzun süreli baskılama ve gonadal hormon eksikliği nedeniyle şimdiye kadar tespit edilmeyen yan etkilerinin ortaya çıkma olasılığı göz ardı edilmemelidir. Potansiyel yan etkiler, bireysel cevap ve etki süresinin değişebildiği konusunda hayvan sahipleri bilgilendirilmeli, uygulama öncesi-sırası ve sonrasında rutin klinik muayeneler konusunda dikkatli davranılmalıdır.

### 4. KAYNAKLAR

Arlt, S. P., Spankowsky, S., & Heuwieser, W. (2011). Follicular cysts and prolonged oestrus in a female dog after administration of a deslorelin implant. *New Zealand Veterinary Journal*, 59(2), 87-91.

Aspden, W. J., Rao, A., Rose, K., Scott, P. T., Clarke, I. J., Trigg, T. E., ... & Michael, J. D. (1997). Differential responses in anterior pituitary luteinizing hormone (LH) content and LH $\beta$ - and  $\alpha$ -subunit mRNA, and plasma concentrations of LH and testosterone, in bulls treated with the LH-releasing hormone agonist deslorelin. *Domestic Animal Endocrinology*, 14(6), 429-437.

Balogh, O., Somoskői, B., Kollár, E., Kowalewski, M. P., Gram, A., Reichler, I. M., ... & Müller, L. (2021). Anti-Müllerian hormone, testosterone, and insulin-like peptide 3 as biomarkers of Sertoli and Leydig cell function during deslorelin-induced testicular downregulation in the dog. *Theriogenology*, 175, 100-110.

Borges, P., Fontaine, E., Maenhoudt, C., Payan-Carreira, R., Santos, N., Leblond, E., ... & Fontbonne, A. (2015). Fertility in adult bitches previously treated with a 4.7 mg subcutaneous deslorelin implant. *Reproduction in Domestic Animals*, 50(6), 965-971.

Brändli, S. P., Palm, J., Kowalewski, M. P., & Reichler, I. M. (2021). Long-term effect of repeated deslorelin acetate treatment in bitches for reproduction control. *Theriogenology*, 173, 73-82.

Chotimanukul, S., Goericke-Pesch, S., Suwimonteerabutr, J., Singlor, J., Sangkrachang, E., Tummaruk, P., & Ponglowhapan, S. (2023). Serum Anti-Müllerian Hormone Levels and Estrous Monitoring of GnRH Agonist Deslorelin-Induced Estrus in Bitches: A Pilot Study. *Animals*, 13(2), 258.

Concannon, P. W. (2011). Reproductive cycles of the domestic bitch. *Animal reproduction science*, 124(3-4), 200-210.

D'Occhio, M. J., Campanile, G., & Baruselli, P. S. (2020). Peripheral action of kisspeptin at reproductive tissues—role in ovarian function and embryo implantation and relevance to assisted reproductive technology in livestock: a review. *Biology of Reproduction*, 103(6), 1157-1170.

EMA Summary Report: The european agency for the evaluation of medicinal products veterinary medicines and inspections emea/mrl/830/02-final february, committee for veterinary medicinal products deslorelin acetate summary report, 2002.

European Medicines Agency: Scientific Discussion Suprelorin 4.7 Mg Implant For Dogs, Reproduction is Authorised Provided the Source is Acknowledged, 2010.

Fontbonne, A., & Maenhoudt, C. (2021). Medical control of reproduction in the male dog with deslorelin subcutaneous implants. *Clinical Theriogenology*, 13(3), 151-155.

Gentil, M., Hoffmann, B., Spang, A., Failing, K., & Goericke-Pesch, S. (2012). Restart of steroidogenesis in dogs during recrudescence of testicular function following downregulation with a GnRH-agonist implant. *Cell and tissue research*, 350, 513-523.

- Gobello, C. (2012). Effects of GnRH Antagonists vs Agonists in Domestic Carnivores, a Review. *Reproduction in Domestic Animals*, 47, 373-376.
- Goericke-Pesch, S., 2017. Long-term effects of GnRH agonists on fertility and behaviour. *Reproduction in Domestic Animals* 52, 336–347.
- Goericke-Pesch, S., Gentil, M., Spang, A., Kowalewski, M. P., Failing, K., & Hoffmann, B. (2013). Status of the down-regulated canine testis using two different GnRH agonist implants in comparison with the juvenile testis. *Reproduction*, 146(6), 517-526.
- Goericke-Pesch, S., Spang, A., Schulz, M., Özalp, G., Bergmann, M., Ludwig, C., & Hoffmann, B. (2009). Recrudescence of spermatogenesis in the dog following downregulation using a slow release GnRH agonist implant. *Reproduction in domestic animals*, 44, 302-308.
- Gontier, A., Youala, M., Fontaine, C., Raibon, E., Fournel, S., Briantais, P., & Rigaut, D. (2022). Efficacy and Safety of 4.7 mg Deslorelin Acetate Implants in Suppressing Oestrus Cycle in Prepubertal Female Dogs. *Animals*, 12(24), 3504.
- Gram, D. Y., Sexton, B., Liman, N., Müller, L., Abay, M., Gram, A., & Balogh, O. (2022). Testicular Expression of Antioxidant Enzymes and Changes in Response to a Slow-Release Deslorelin Implant (Suprelorin® 4.7 mg) in the Dog. *Animals*, 12(18), 2343.
- Herbison, A. E., & Plant, T. M. (Eds.). (2018). *The GnRH neuron and its control*. John Wiley & Sons.
- Junaidi, A., Williamson, P. E., Martin, G. B., Stanton, P. G., Blackberry, M. A., Cummins, J. M., & Trigg, T. E. (2007). Pituitary and testicular endocrine responses to exogenous gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) and luteinising hormone in male dogs treated with GnRH agonist implants. *Reproduction, fertility and development*, 19(8), 891-898.
- Junaidi, A., Williamson, P. E., Trigg, T. E., Cummins, J. M., & Martin, G. B. (2009). Morphological study of the effects of the GnRH superagonist deslorelin on the canine testis and prostate gland. *Reproduction in domestic animals*, 44(5), 757-763.
- Karadag, M. A., Demir, M. C., Kuru, M., Schaefer-Somi, S., Aslan, S., & Kaya, D. (2021, February). Short-term clinical and hormonal effects of a deslorelin implant on late-prepubertal bitches. In *Reproduction in Domestic Animals*, Vol. 56, pp. 43-43.
- Kaya, D., Aslan, S., Kaya, S., Kuru, M., Kacar, C., & Schäfer-Somi, S. (2013). Clinical and endocrine short-term effects of GnRH analogue deslorelin in prepubertal bitches: Does a “flare-up” occur?. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 19(2), 299-304.
- Kaya, D., Ay, S. S. (2017). Effect of Deslorelin on the Genital Tract in the Bitch: Mechanism of Action and Contraceptive Efficacy. *Turkiye Klinikleri J Vet Sci Obstet Gynecol-Special Topics*, 3(1), 17-23.
- Kaya, D., Gram, A., Kowalewski, M. P., Schäfer-Somi, S., Kuru, M., Boos, A., & Aslan, S. (2017). Expression of GnRH receptor in the canine corpus luteum, and luteal function following deslorelin acetate-induced puberty delay. *Reproduction in Domestic Animals*, 52(6), 1104-1112.
- Kaya, D., Schäfer-Somi, S., Kurt, B., Kuru, M., Kaya, S., Kaçar, C., ... & Aslan, S. (2015). Clinical use of deslorelin implants for the long-term contraception in prepubertal bitches: Effects on epiphyseal closure, body development, and time to puberty. *Theriogenology*, 83(7), 1147-1153.
- Kaya, D., Schäfer-Somi, S., Kurt, B., Kuru, M., Kaya, S., Kaçar, C., ... & Aslan, S. (2015). Clinical use of deslorelin implants for the long-term contraception in prepubertal bitches: Effects on epiphyseal closure, body development, and time to puberty. *Theriogenology*, 83(7), 1147-1153.
- Kutzler, M., & Wood, A. (2006). Non-surgical methods of contraception and sterilization. *Theriogenology*, 66(3), 514-525.
- Kutzler, M., Lamb, S. V., & Volkmann, D. (2009). Comparison between vestibular and subcutaneous insertion of deslorelin implants for oestrus induction in bitches. *Reproduction in Domestic Animals*, 44, 83-86.

- Lucas, X. (2014). Clinical use of deslorelin (GnRH agonist) in companion animals: a review. *Reproduction in domestic animals*, 49, 64-71.
- Ludwig, C., Desmoulins, P. O., Driancourt, M. A., Goericke-Pesch, S., & Hoffmann, B. (2009). Reversible downregulation of endocrine and germinative testicular function (hormonal castration) in the dog with the GnRH-agonist azagly-nafarelin as a removable implant "Gonazon"; a preclinical trial. *Theriogenology*, 71(7), 1037-1045.
- Maenhoudt, C., Santos, N. R., Fontaine, E., Mir, F., Reynaud, K., Navarro, C., & Fontbonne, A. (2012). Results of Gn RH Agonist Implants in Oestrous Induction and Oestrous Suppression in Bitches and Queens. *Reproduction in Domestic Animals*, 47, 393-397.
- Manna, P. R., Stetson, C. L., Slominski, A. T., & Pruitt, K. (2016). Role of the steroidogenic acute regulatory protein in health and disease. *Endocrine*, 51, 7-21.
- Marino, G., Rizzo, S., Quartuccio, M., Macri, F., Pagano, G., Taormina, A., ... & Zanghi, A. (2014). Deslorelin Implants in Pre-pubertal Female Dogs: Short-and Long-Term Effects on the Genital Tract. *Reproduction in Domestic Animals*, 49(2), 297-301.
- Müller, L., Mester, L., Nagy, A., Hanács, R., Janett, F., Cseh, S., ... & Balogh, O. (2018). Effect of long-acting deslorelin implant (Suprelorin® 4.7 mg) on semen characteristics, body weight, serum biochemical and haematology profile in adult male Beagle dogs. Literature review and a prospective study. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 140(12), 727-736.
- Navarro, C., & Schober, P. A. (2012, July). Pharmacodynamics and pharmacokinetics of a sustained-release implant of deslorelin in companion animals. In *Proceedings of the 7th International Symposium on Canine and Feline Reproduction*, Whistler, BC, Canada (pp. 26-29).
- Palm, J., & Reichler, I. M. (2012). The use of deslorelin acetate (Suprelorin®) in companion animal medicine. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, 154(1), 7-12.
- Ponglowhapan, S. (2011). Clinical applications of GnRH agonist deslorelin in dogs and cats. *The Thai Journal of Veterinary Medicine*, 41, 59.
- Romagnoli, S., Siminica, A., Sontas, B. H., Milani, C., Mollo, A., & Stelletta, C. (2012). Semen quality and onset of sterility following administration of a 4.7-mg deslorelin implant in adult male dogs. *Reproduction in Domestic Animals*, 47, 389-392.
- Romagnoli, S., Stelletta, C., Milani, C., Gelli, D., Falomo, M. E., & Mollo, A. (2009). Clinical use of deslorelin for the control of reproduction in the bitch. *Reproduction in domestic animals*, 44, 36-39.
- Rubion, S., & Driancourt, M. A. (2009). Controlled delivery of a GnRH agonist by a silastic implant (Gonazon) results in long-term contraception in queens. *Reproduction in Domestic Animals*, 44, 79-82.
- Schäfer-Somi, S., Kaya, D., & Aslan, S. (2022). Prepubertal Use of Long-Term GnRH Agonists in Dogs: Current Knowledge and Recommendations. *Animals*, 12(17), 2267.
- Schäfer-Somi, S., Kaya, D., Gültiken, N., & Aslan, S. (2014). Suppression of Fertility in Pre-pubertal Dogs and Cats. *Reproduction in Domestic Animals*, 49, 21-27.
- Sirivaidyapong, S., Mehl, N. S., & Trigg, T. E. (2012). Delay of Puberty and Reproductive Performance in Male Dogs Following the Implantation of 4.7 and 9.4 mg GnRH-Agonist Deslorelin at an Early Pre-pubertal Age. *Reproduction in Domestic Animals*, 47, 400-402.
- Stempel, S., Körber, H., Reifarth, L., Schuler, G., & Goericke-Pesch, S. (2022). What Happens in Male Dogs after Treatment with a 4.7 mg Deslorelin Implant? I. Flare up and Downregulation. *Animals*, 12(18), 2379.
- Sung, M., Armour, A. F., & Wright, P. J. (2006). The influence of exogenous progestin on the occurrence of proestrous or estrous signs, plasma concentrations of luteinizing hormone and estradiol in deslorelin (GnRH agonist) treated anestrous bitches. *Theriogenology*, 66(6-7), 1513-1517.
- Trigg, T. E., Doyle, A. G., Walsh, J. D., & Swangchan-Uthai, T. (2006). A review of advances in the use of the GnRH agonist deslorelin in control of reproduction. *Theriogenology*, 66(6-7), 1507-1512.

Trigg, T. E., Wright, P. J., Armour, A. F., Williamson, P. E., Junaidi, A., Martin, G. B., ... & Walsh, J. (2001). Use of a GnRH analogue implant to produce reversible long-term suppression of reproductive function in male and female domestic dogs. *Journal of reproduction and fertility. Supplement*, 57, 255-261.

Valiente, C., Diaz, J. D., Rosa, D. E., Mattioli, G., Romero, G. G., & Gobello, C. (2009). Effect of a GnRH antagonist on GnRH agonist–implanted anestrous bitches. *Theriogenology*, 72(7), 926-929.

INVESTIGATION OF SERUM AST, ALT, ALP and GGT ACTIVITIES IN  
PERIPARTURIENT COWS  
PERİPARTURİENT DÖNEM İNEKLERDE SERUM AST, ALT, ALP ve GGT  
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

*Serpil AYGÖRMEZ<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Kafkas University of Faculty of Veterinary Medicine Department of Biochemistry, Kars, Turkey.*

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5675-5096>

*Lale BAŞER<sup>2</sup>*

<sup>2</sup>*Kafkas University of Faculty of Veterinary Medicine Department of Biochemistry, Kars, Turkey.*

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0659-6346>

*Emine ATAKİŞİ<sup>3</sup>*

<sup>3</sup>*Kafkas University of Faculty of Veterinary Medicine Department of Biochemistry, Kars, Turkey.*

<sup>3</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5685-1870>

## ABSTRACT

The transition from pregnancy to lactation that is the 'periparturient period' covers 3-4 weeks before calving and 3-4 weeks after calving. The periparturient period is a critical period in which many metabolic and infectious diseases occur and the immune system is affected. According to the studies on the nutrition and physiology of dairy cows in the periparturient period it is the period when the problems are most common. Metabolic diseases in this period are a problem in all farm animals and cause economic losses. While the risk of developing diseases in cows in this period includes nutritional and metabolic conditions other factors (such as season, age, number of pregnancies, duration of pregnancy, previous diseases and hygiene) are also effective. Liver function is very important in the transition from dry to early lactation in dairy cows. For these reasons, it was aimed to investigate serum aspartate amino transferase (AST), alanine amino transferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP) and gamma glutamyl transferase (GGT) activities in dairy cows during the transition period including the last period of pregnancy calving and the beginning of lactation. 20 Brown and Simmental cows were used in the study. For the study, blood samples were collected from the tail vein into tubes without anticoagulation one month before calving (-30), two weeks before calving (-14), at the time of calving (0), two weeks after calving (14), one month after calving (30). The blood samples were centrifuged at 3000 rpm for 15 minutes and their serums were extracted. Sera were stored at -20°C until measurements were made. AST, ALT, ALP and GGT activities were measured by colorimetric method. Based on the data obtained in this study in periparturient cows serum AST activity was found to be significantly higher in 0 and 14 compared to other periods ( $p<0.001$ ). Serum ALT activity was found to be significantly higher in -14 compared to -30, 0 and 30 periods ( $p<0.01$ ). Serum ALP activity was found to be significantly higher at 0 compared to -30, 14 and 30 periods ( $p<0.001$ ). Serum GGT activity was found to be significantly higher in the 0, 14 and 30 periods compared to the -14 and -30 periods ( $p<0.001$ ). As a result, it was concluded that it is important to avoid excessive energy consumption especially in the prenatal period to improve liver function.

**Keywords:** periparturient period, aspartate amino transferase, alanine amino transferase, alkaline phosphatase, gamma glutamyl transferase.

## 1. INTRODUCTION

The 'periparturient period' or 'transitional period' in dairy cows covers 2-4 weeks before calving and 3-4 weeks after calving including before, during and after calving (Loor et al., 2005, Aygörmez & Atakişi,

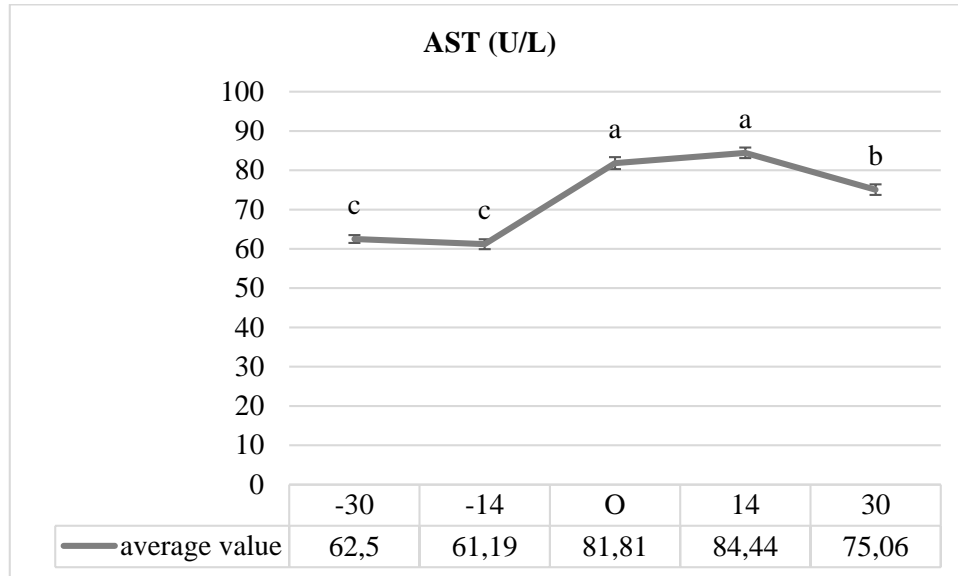
2021, Kabir et al., 2022). It has been suggested that the periparturient period is the most critical stage for the health and performance of dairy cows which are exposed to severe physiological adaptations (Drackley, 1999, Andersen et al., 2005, Loor et al., 2005, Kabir et al., 2022). Major health problems in high-yielding cows occur during parturition and lactation (ketosis, fatty liver, etc.) (Andersen et al., 2005, Djokovic et al., 2019). Generally the dry matter taken in the prenatal period is not enough to meet the energy need (Crociati et al., 2017). For this reason while a negative energy balance (NEB) is observed in dairy cows due to reduced dry matter intake higher energy production is required for milk production (Mohsin et al., 2022). Dry period nutritional management is important to maintain the health and productivity of transitional cows. By increasing the dry matter intake after calving, minimizing the NEB period can reduce the incidence of metabolic diseases (Kabir et al., 2022). In the early lactation period dairy cows experience fetal development milk production, high energy intake, physiological and metabolic changes with NEB (Crociati et al., 2017, Kabir et al., 2022, Mohsin et al., 2022). It has been reported that metabolic disorders caused by nutrient, energy, vitamin or mineral deficiencies, especially in dairy cows in the transition period have a significant effect on health, reproduction and milk production in cows since they are very common in early lactation and in the post-lactation period (Mordak et al., 2020). Approximately 75% of diseases in dairy cows occur in the first month after calving (Kabir et al., 2022). Among the most economically important diseases of high-yielding dairy cattle are metabolic disorders, ketosis, acidosis and other diseases. For example; metabolic alkalosis causes a decrease in bovine tissue oxygen consumption, energy deficit, deterioration in acid-base and water-electrolyte balance (Eva et al., 2015). Early detection of imbalances in the mammary glands, milk production and liver function during the periparturient period helps to eliminate or minimize the occurrence of diseases in the herd (Mordak et al., 2020). The liver performs essential functions in the body through the expression of genes encoding plasma proteins, coagulation factors, enzymes involved in detoxification, gluconeogenesis, glycogen synthesis, lipid and cholesterol metabolism (Loor et al., 2005). In imbalances in the periparturient period dairy cows mobilize a large amount of body reserves especially lipids. Lipids are released from the periphery into the circulation in the form of non-esterified fatty acids (NEFA). It is then used for gluconeogenesis and ketogenesis in the liver (Crociati et al., 2017). If NEB is excessive, it causes the development of hyperketonemia by triggering fat mobilization, the production of ketone bodies, initiating metabolic stress and increasing the concentrations of fatty acids and  $\beta$ -hydroxybutyrate (BHB) in the blood (Mohsin et al., 2022). In addition, NEFA intake eliminates the possibility of complete oxidation in the liver. In this case NEFA is re-esterified to triglycerides and stored as lipid droplets in the cytoplasm of hepatocytes (Crociati et al., 2017). Diagnosis of metabolic disorders is quite difficult. Various methods are being developed to detect these disorders (Eva et al., 2015). A number of specific blood analytical tests are routinely used to reveal metabolic problems in dairy cattle (Djokovic et al., 2019). Clinical and laboratory diagnoses of diseases are important in veterinary medicine to diagnose prevent and treat not only infectious diseases but also nutritional and metabolic health problems. Therefore, it helps to reduce the treatment and culling costs of cows (Mordak et al., 2020). For these reasons, it is aimed to investigate serum aspartate amino transferase (AST), alanine amino transferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP) and gamma glutamyl transferase (GGT) activities in dairy cows during the transition period including the last period of pregnancy, calving and the beginning of lactation.

## 2. MATERIAL and METHOD

This study was carried out it was done on 20 Brown and Simmental cows in Kars Kafkas University Veterinary Faculty Prof. Dr. Ali Rıza Aksoy Training, Research and Application Farm. Blood samples were collected from the tail vein into tubes without anticoagulant at one month before calving (-30), two weeks before calving (-14), at the time of calving (0), two weeks after calving (14), and one month after calving (30). The blood samples were centrifuged at 3000 rpm for 15 minutes and their serum was removed and the samples were kept at -20°C until the measurements were made by adding aprotinin. Serum AST, ALT, ALP and GGT activities were measured by colorimetric method. SPSS Windows 20.0 package program was used to calculate the statistical analysis of the obtained data. Differences between mean values between periods were determined by analysis of variance (ANOVA) and Tukey test. Results; given as mean $\pm$ standard error ( $\bar{x}\pm S_x$ ).  $p<0.05$  was considered statistically significant.

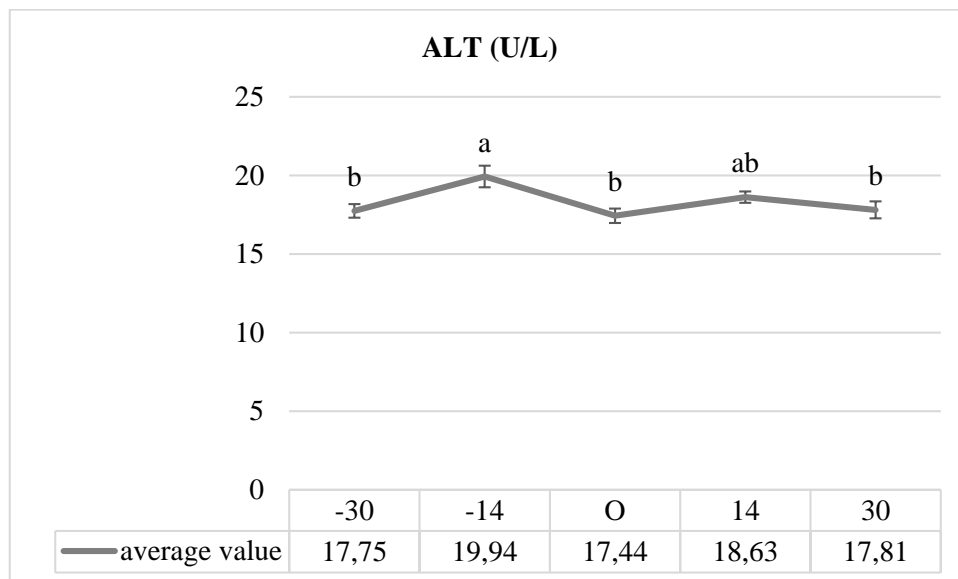
## 2.1. Results

In the current study, serum AST activity was found to be significantly higher at 0 and 14 compared to other periods ( $p < 0.001$ ).



**Figure 1:** Serum AST activity. (a,b,c: The difference between groups with different letters is significant ( $p < 0.001$ )).

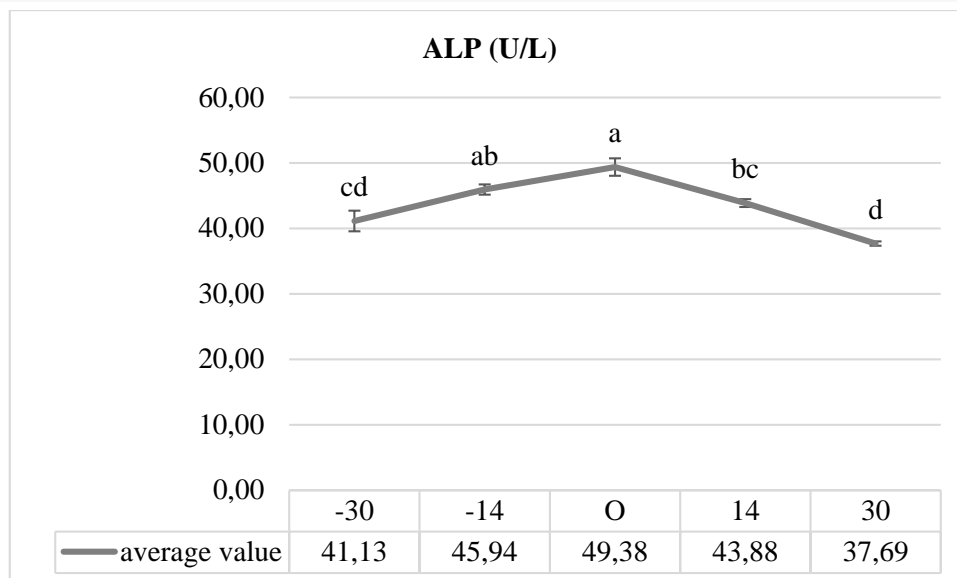
In the presented study, serum ALT activity was found to be significantly higher in -14 compared to -30, 0 and 30 periods ( $p < 0.01$ ).



**Figure 2:** Serum ALT activity. (a,b: The difference between groups with different letters is significant ( $p < 0.01$ )).

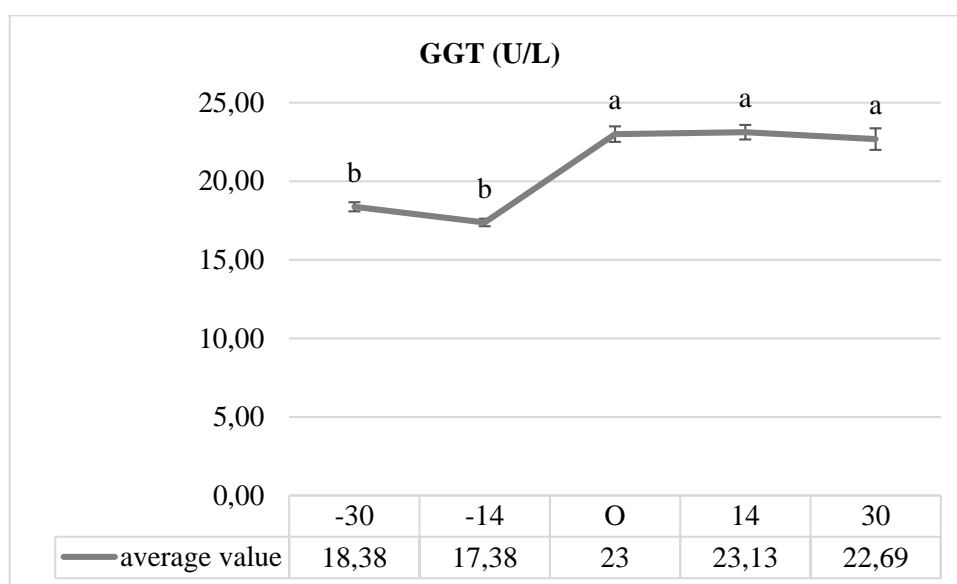
In the current study, serum ALP activity was found to be significantly higher at 0 compared to the -30, 14 and 30 periods ( $p < 0.001$ ).





**Figure 3:** Serum ALP activity. (a,b,c,d: The difference between groups with different letters is significant ( $p<0.001$ )).

In the present study, serum GGT activity was found to be significantly higher in the 0, 14 and 30 periods compared to the -14 and -30 periods ( $p<0.001$ ).



**Figure 4:** Serum GGT activity. (a,b: The difference between groups with different letters is significant ( $p<0.001$ )).

### 3. CONCLUSION

The periparturient period is known as the most critical phase of the lactation cycle for dairy cows. Because the incidence of metabolic and infectious diseases occurs disproportionately in this period. Evaluation of biochemical parameters in blood is always interesting to evaluate animal health and milk yield. It has been reported that the activity of AST, ALT, ALP, GGT enzymes in blood serum is important in the examination of liver function, assessment of the general state of liver processes. These are potentially measurable as cows milk yield and quality are dependent on their internal metabolic homeostasis including liver processes. Based on the data obtained in the current study, it was concluded that avoiding excessive energy consumption especially in the prenatal period is important for improving liver function.

#### 4. REFERENCES

- Mordak, R., Kupczyński, R., Kuczaj, M., & Nizański, W. (2020). Analysis of correlations between selected blood markers of liver function and milk composition in cows during late lactation period. *Annals of Animal Science*, 20, 871-886.
- Mohsin, M. A., Yu, H., He, R., Wang, P., Gan, L., Du, Y., Huang, Y., Abro, M. B., Sohaib, S., Pierzchala, M., Sobiech, P., Miğtkiewska, K., Pareek, C. S., & He, B. X. (2022). Differentiation of Subclinical Ketosis and Liver Function Test Indices in Adipose Tissues Associated With Hyperketonemia in Postpartum Dairy Cattle. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 796494.
- Crociati, M., Sylla, L., Floridi, C., Comin, A., Fruganti, G., Monaci, M., & Stradaoli, G. (2017). Influence of lipoproteins at dry-off on metabolism of dairy cows during transition period and on postpartum reproductive outcomes. *Theriogenology*, 94, 31-36.
- Drackley, J. K. (1999). Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier?. *Journal of Dairy Science*, 2, 2259-2273.
- Eva, T., Anton, K., Ľuboš, H., Norbert, L., Adriana, K., Alena, V., & Jaroslav, K. (2015). INTERNAL MILIEAU OF DAIRY COWS AT THE BEGINNING OF LACTATION AND ITS INFLUENCE ON COMPOSITION OF RAW MILK. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 4, 116-119.
- Djokovic, R., Cincovic, M., Ilic, Z., Kurcubic, V., Andjelic, B., Petrovic, M., Lalic, N., & Jasovic, B. (2019). Relationships Between Contents of Biochemical Metabolites in Blood and Milk in Dairy Cows During Transition and Mid Lactation. *The International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, 17, 1.
- Aygörmez, S., & Atakişi, E. (2021). Investigation of omentin-1 and metabolic parameters in periparturient cows. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 72, 2733-2740.
- Andersen, J. B., Madsen, T. G., Larsen, T., Ingvarsen, K. L., & Nielsen, M. O. (2005). The effects of dry period versus continuous lactation on metabolic status and performance in periparturient cows. *Journal of Dairy Science*, 88, 3530-3541.
- Loor, J. J., Dann, H. M., Everts, R. E., Oliveira, R., Green, C. A., Guretzky, N. A. J., Rodriguez-Zas, S. L., Lewin, H. A., & Drackley, J. K. (2005). Temporal gene expression profiling of liver from periparturient dairy cows reveals complex adaptive mechanisms in hepatic function. *Physiological Genomics*, 23, 217-226.
- Kabir, M., Hasan, M. M., Tanni, N. S., Parvin, M. S., Asaduzzaman, M., Ehsan, M. A., & Islam, M. T. (2022). Metabolic profiling in periparturient dairy cows and its relation with metabolic diseases. *BMC Research Notes*, 5, 231.

**BIOCHEMICAL ANALYSIS OF SOME INDICATORS OF PROTEIN METABOLISM IN  
THE PERIPARTURIENT PERIOD IN DAIRY COWS**

**Lale BASER<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Research Assistant, Kafkas University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Biochemistry,  
Kars, Turkey

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0659-6346>

**Serpil AYGORMEZ<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>(Research Assistant Doctor), Kafkas University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of  
Biochemistry, Kars, Turkey

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5675-5096>

**Emine ATAKISI<sup>3</sup>**

<sup>3</sup>(Professor Doctor), Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine, Department of Biochemistry,  
Kars, Turkey,

<sup>3</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5685-1870>

**ABSTRACT**

The period covering 3 weeks before birth and 3 weeks after birth in dairy cows is called the “periparturient period”. The period before birth is also reported as the dry period, and the period after birth as the lactation period. During this period, many physiological and biochemical changes, metabolic and infectious diseases occur in dairy cows. In periparturient cows, problems such as decreased appetite and feed consumption, negative energy balance, mastitis, hypocalcemia, ketosis, laminitis and abomasum displacement occur. Many health problems occur after calving. In this study, 20 Brown and Simmental cows were used as material. Blood samples were taken from the tail vein into tubes without anticoagulant in five different periods: one month before birth, two weeks before birth, time of birth, two weeks after birth, and one month after birth. The blood was immediately centrifuged at 3000 rpm for 15 minutes and separated into serum. Sera were stored at -20oC until measurements were made. Total protein, creatinine, urea levels; creatinine kinase activity was measured to determine the indicator of protein metabolism. Total protein was determined by Bradford Method, creatinine level and creatinine kinase activity were determined by colorimetric and urea levels were determined by ELISA method. For the statistical analysis of the obtained data, ANOVA and Tukey tests were performed using the SPSS package program. Based on the data obtained, creatine kinase activity was found to be significantly higher ( $p<0.001$ ) at the time of delivery compared to one month and two weeks before delivery. The creatinine level was found to be higher at the time of birth, two weeks before birth, and one month before birth compared to other periods ( $p<0.001$ ). The urea level at the time of delivery was found to be significantly higher than the other periods ( $p<0.001$ ). When the total protein amount was analyzed, it was found that it was significantly higher than the time of birth in one month before birth, two weeks after birth, and one month after birth ( $p<0.01$ ). Determination of indicators of protein metabolism during the periparturient periods of cows provides a reference for the expected range in the concentration of animal health-related blood factors.

**Keywords:** Periparturient Period, Urea, Creatinine, Creatinine Kinase, Protein.

**1. INTRODUCTION**

The transition period, known as the periparturient period, covers a period of 3 months before calving and 3 months after calving in dairy cows (Aleri et al., 2016). The transition period includes processes such as pre-birth, time of birth and onset of lactation in cows. It is a very challenging process as dairy

cows need to adapt to the changes in physical and environmental conditions during this period (Proudfoot & Huzzey, 2022). This period is a risky stage in which the risk of disease increases and approximately 30%-50% of the cows experience metabolic problems and catch infectious diseases (Gu et al., 2022). Dairy cows are frequently caught in the transition period to metabolic disorders such as ketosis, fatty liver disease, milk fever, mastitis, metritis, abomasum displacement. In order to reduce the disease rate, it is necessary to increase the comfort of the cows by expanding the sleeping areas of the cows, to keep the feeding and watering area hygienic, to clean the barn at regular intervals, to ensure the balance of mineral and macronutrients, energy and protein levels in the ration (Redfern et al., 2021). This is the most challenging period for dairy cows physiologically and biochemically throughout their lives. Sustainable production of cows is central to their physiological functions. This process, especially seen in dairy cows, is controlled by genes, proteins, enzymes and metabolic products (Zhang et al., 2022). Urea, the main production site of which is the liver, occurs as a result of rumen fermentation or deamination of amino acids, catabolized from ammonia occurring in the intestine (Duplessis et al., 2022). The main source of creatinine in plasma is muscle creatinine, and any change in skeletal muscle mass in healthy animals with properly functioning kidney functions also causes changes in plasma creatinine levels (Megahed et al., 2019). Analysis of the main metabolites involved in energy, protein metabolism and liver function pathways is used to determine the effects of these metabolites on the periparturient period in cows (Spaans et al., 2022).

## **2. DEVELOPMENT**

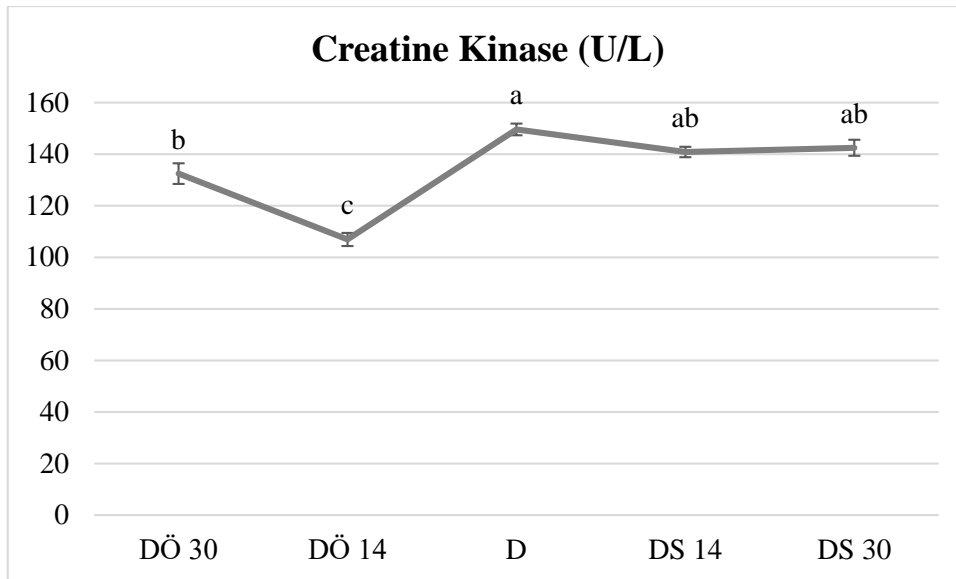
### **2.1. Material-Method**

This study was carried out at Kars Kafkas University Veterinary Faculty Farm. Before starting the study, a farm permit and an ethics committee permit with the code of KAU-HADYEK/2017-078 were obtained. 15 brown and cimantal breed cows were used in the study. The study was carried out between September and February to capture the periparturient period in 15 cows. For the study, blood samples from the tail vein were collected in tubes without anticoagulation one month before birth (DS 30), two weeks before birth (DS 14), at the time of birth (D), two weeks after birth (DS 14), and one month after birth (DS 30). The blood samples were centrifuged at 3000 rpm for 15 minutes and their serum was removed, and the samples were stored at -20°C until the measurements were made by adding aprotinin.

Total protein, creatinine, urea levels and creatinine kinase activity were measured to determine the indicator of protein metabolism. Total protein was determined by Bradford Method (Bradford, 1976), creatinine level and urea level were determined by colorimetric method, and creatinine kinase activity was determined by ELISA (BT LAB) method. For the statistical analysis of the obtained data, ANOVA and Tukey tests were performed using the SPSS package program.

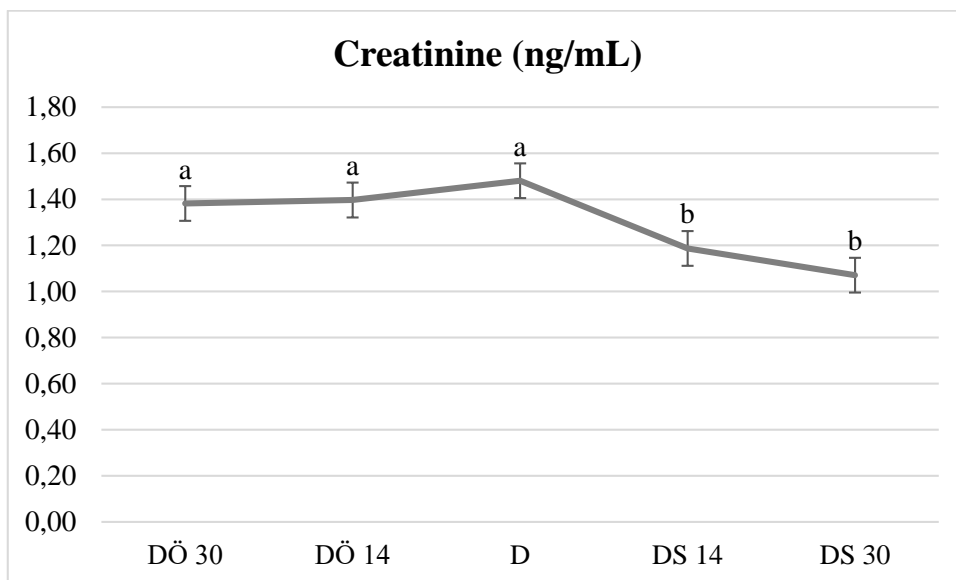
### **2.2. Results**

Based on the data obtained, creatine kinase activity was found to be significantly higher ( $p < 0.001$ ) at the time of delivery compared to one month and two weeks before delivery.



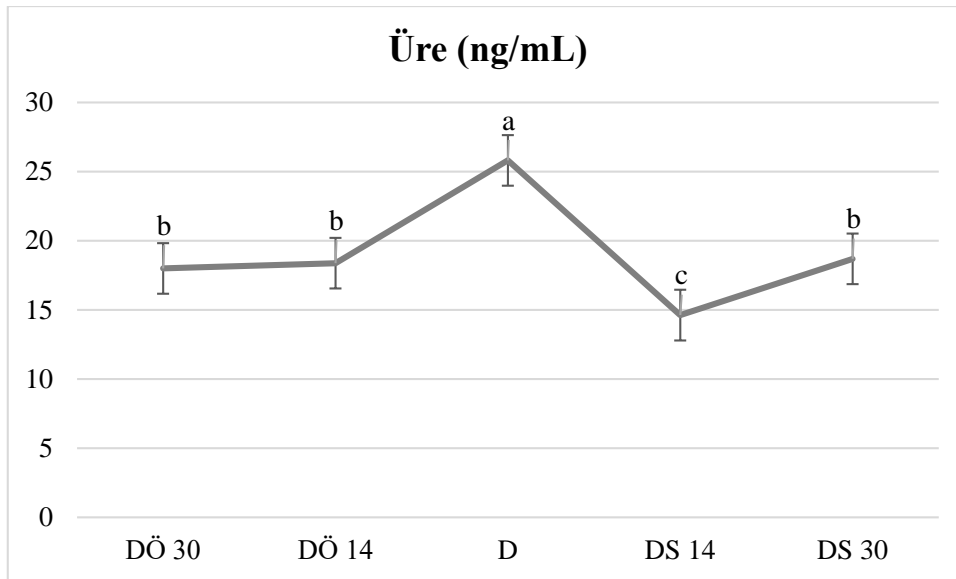
**Figure 1:** Difference of creatine kinase activity between groups

The creatinine level was found to be higher at the time of delivery, two weeks before birth, and one month before birth compared to other periods ( $p < 0.001$ ).



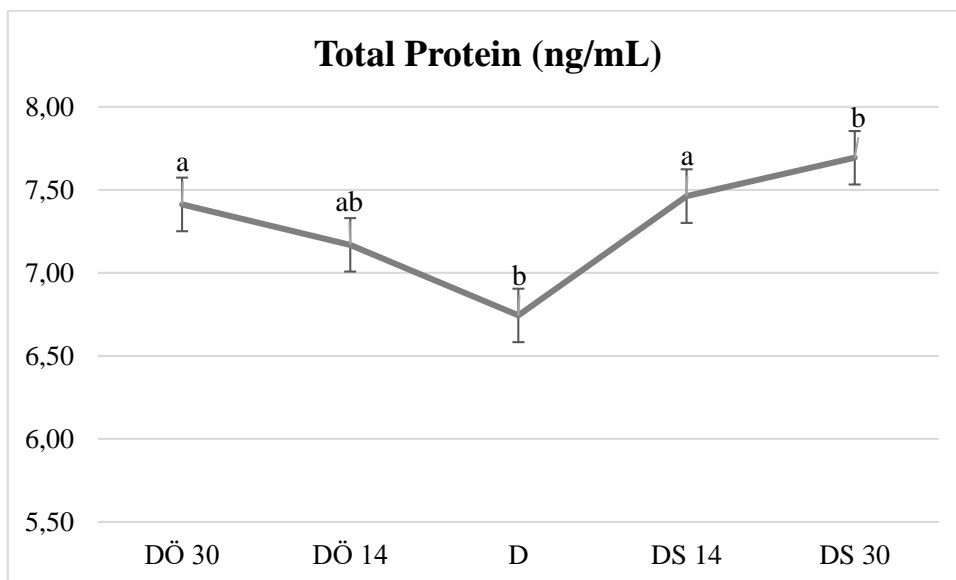
**Figure 2:** Difference of creatinine level between groups

The urea level at the time of delivery was found to be significantly higher than the other periods ( $p < 0.001$ ).



**Figure 3:** Difference in urea level between groups

When the total protein amount was examined, it was found that it was significantly higher than the time of birth in one month before birth, two weeks after birth and one month period ( $p < 0.01$ ).



**Figure 4:** Difference of total protein level between groups

### 3. CONCLUSION

The transition period in dairy cows is a period that causes negative energy balance and an increase in various diseases by suppressing the immune system. By eliminating these reasons that cause great economic losses, metabolic analysis studies in dairy cows should be increased. In dairy cows, energy status, protein profile, liver function, mineral and vitamin levels are very important for maintaining a healthy transition period. For this reason, serum levels, which are an important marker in determining the diagnosis and treatment of health in animals, are very important for healthy animal herds.

### 4. REFERENCES

Aleri, J. W., Hine, B. C., Pyman, M. F., Mansell, P. D., Wales, W. J., Mallard, B., & Fisher, A. D. (2016). Periparturient immunosuppression and strategies to improve dairy cow health during the periparturient period. *Research in Veterinary Science*, 108, 8–17. <https://doi.org/10.1016/J.RVSC.2016.07.007>

- Duplessis, M., Lapierre, H., Sauerwein, H., & Girard, C. L. (2022). Combined biotin, folic acid, and vitamin B12 supplementation given during the transition period to dairy cows: Part I. Effects on lactation performance, energy and protein metabolism, and hormones. *Journal of Dairy Science*, *105*(8), 7079–7096. <https://doi.org/10.3168/JDS.2021-21677>
- Gu, F. F., Jiang, L. Y., Wang, D. M., Zhao, F. Q., & Liu, J. X. (2022). Supplementation with N-carbamoylglutamate during the transition period improves the function of neutrophils and reduces inflammation and oxidative stress in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *105*(7), 5786–5795. <https://doi.org/10.3168/JDS.2021-21159>
- Megahed, A. A., Hiew, M. W. H., Ragland, D., & Constable, P. D. (2019). Changes in skeletal muscle thickness and echogenicity and plasma creatinine concentration as indicators of protein and intramuscular fat mobilization in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *102*(6), 5550–5565. <https://doi.org/10.3168/JDS.2018-15063>
- MM, B. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, *72*(1–2), 248–254. <https://doi.org/10.1006/ABIO.1976.9999>
- Proudfoot, K. L., & Huzzey, J. M. (2022). A first time for everything: The influence of parity on the behavior of transition dairy cows. *JDS Communications*, *3*(6), 467–471. <https://doi.org/10.3168/JDSC.2022-0290>
- Redfern, E. A., Sinclair, L. A., & Robinson, P. A. (2021). Dairy cow health and management in the transition period: The need to understand the human dimension. *Research in Veterinary Science*, *137*, 94–101. <https://doi.org/10.1016/J.RVSC.2021.04.029>
- Spaans, O. K., Kuhn-Sherlock, B., Hickey, A., Crookenden, M. A., Heiser, A., Burke, C. R., Phyn, C. V. C., & Roche, J. R. (2022). Temporal profiles describing markers of inflammation and metabolism during the transition period of pasture-based, seasonal-calving dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *105*(3), 2669–2698. <https://doi.org/10.3168/JDS.2021-20883>
- Zhang, J., Gaowa, N., Wang, Y., Li, H., Cao, Z., Yang, H., Zhang, X., & Li, S. (2022). Complementary hepatic metabolomics and proteomics reveal the adaptive mechanisms of dairy cows to the transition period. *Journal of Dairy Science*. <https://doi.org/10.3168/JDS.2022-22224>

**BUZAĞILARDA SEPSİS, SEPSİS BİOMARKERLARI VE SİTOKİNLER  
SEPSIS, SEPSIS BIOMARKERS AND CYTOKINES IN CALVES**

**Ali Burak DÖRTKARDEŞ<sup>1</sup>**

*Öğretim Görevlisi, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Burdur, Türkiye.*

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9239-1226>

**Şima ŞAHİNDURAN<sup>2</sup>**

*Profesör Doktor, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Burdur, Türkiye.*

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7718-2020>

**ÖZET**

Enfeksiyonlara karşı konağın göstermiş olduğu sistemik inflamatuvar yanıt olarak tanımlanan sepsis, morbiditesi ve mortalitesi yüksek bir klinik sendromdur. Neonatal buzağılarda ölümlerin en önemli sebepleri septisemi, diyare ve pnömoni olup, bunlar içerisinde en yaygın olanı sepsistir. Ayrıca diyare ve pnömoni hastalıklarında erken ve etkin bir tedavi yapılamaması durumunda ise ilerleyen aşamalarda sepsisle ilişkili organ yetmezliği gelişmekte ve ölümler şekillenmektedir. Sepsisin erken teşhisi ve izlenmesi için biyomarkerlarının kullanılması sepsisin yönetimini ve tedavisi için yardımcı olabilir. Sepsisin tanısını ve prognozunu geliştirmek veteriner hekimlikte de oldukça önemlidir. Geleneksel olarak hayvanlarda sepsisin teşhisinde en çok kullanılan biyomarkerlar C-Reaktif Protein gibi akut faz proteinleri ve proinflamatuvar sitokinlerdir. Akut faz proteinlerinin sepsis saptama oranları düşüktür çünkü septik olmayan birçok durumda da artarlar, sitokinlerde de bu durum düşük olmalarına ek olarak daha kısa bir yarı ömre sahiptir ve bu durumda sepsisin saptanmasını oldukça zorlaştırır. Bu dezavantajlardan dolayı da veteriner hekimlikte yeni nesil sepsis biyomarkerları ortaya çıkmaktadır. Sepsis biomarkerları, geleneksel biomarkerler, bakteriyel enfeksiyonlara spesifik biomarkerlar ve sepsiste ek bilgi sağlayabilecek biomarkerlar olarak sınıflandırılabilir. Geleneksel biomarkerler akut faz proteinleri ve sitokinlerdir. Akut faz yanıtı, enfeksiyon, enflamasyon veya doku hasarı gibi patojenik durumlara yanıt olarak birinci basamak konakçı savunmasının bir parçasıdır. Çoğu akut faz proteinin orijini karaciğerdir. Sitokinler, inflamatuvar reaksiyonların başlangıç araçları olarak doğal immun yanıt sırasında salınan geniş bir protein grubudur. Bir uyarıdan sonra oluşan bağışıklığı düzenler, hücrenin aktivasyonu ve toplanmasında, antijen sunumunda, kemik iliğinde hücre farklılaşmasında ve genel olarak inflamatuvar yanıtın geliştirilmesinde ve modülasyonunda esas rolü oynar. Bakteriyel sepsisteki spesifik biomarkerlar Procalcitonin ve Presepsindir. Procalcitonin ve Presepsin, bulaşıcı hastalıkları tespit etmede daha yüksek güvenilirlikleri ve sepsisin teşhisinde önemli bir parça olduğu bilimsel deneyler tarafından ortaya konduğu için insanlarda ve veteriner hekimlikte de gündün güne daha çok kullanılmaktadır. Procalcitonin tiroid C hücrelerinde ve pulmoner-endokrin hücrelerde üretilir ve kalsiyum homeostazında metabolik rolü olan bir hormon olan kalsitoninin öncüsüdür. Presepsin ise Bakteriyel fagositozda fizyolojik rol oynayan bir CD-14 glikoprotein reseptöründen salgılanan bir glikopeptiddir.

**Anahtar Kelimeler:** Buzağı, Sepsis, Biomarker, Sitokinler, Presepsin, Procalcitonin

**ABSTRACT**

Sepsis, defined as the systemic inflammatory response of the host against infections, is a clinical syndrome with high morbidity and mortality. The most important causes of death in neonatal calves are septicemia, diarrhea and pneumonia, the most common of which is sepsis. In addition, in the absence of early and effective treatment in diarrhea and pneumonia diseases, sepsis-related organ failure develops



and deaths occur in the later stages. The use of biomarkers for early detection and monitoring of sepsis can be helpful for the management and treatment of sepsis. Improving the diagnosis and prognosis of sepsis is also very important in veterinary medicine. Traditionally, the most commonly used biomarkers for the diagnosis of sepsis in animals are acute phase proteins such as C-Reactive Protein and proinflammatory cytokines. Acute phase proteins have low detection rates for sepsis because they are also increased in many non-septic conditions, and in addition to being low in cytokines, they have a shorter half-life, making the detection of sepsis in this situation extremely difficult. Due to these disadvantages, new generation sepsis biomarkers are emerging in veterinary medicine. Sepsis biomarkers can be classified as traditional biomarkers, specific biomarkers for bacterial infections, and biomarkers that can provide additional information in sepsis. Traditional biomarkers are acute phase proteins and cytokines. The acute phase response is part of the first-line host defense in response to pathogenic conditions such as infection, inflammation or tissue damage. Most acute phase proteins originate from the liver. Cytokines are a large group of proteins that are released during the innate immune response as initial mediators of inflammatory reactions. It regulates immunity after a stimulus, plays an essential role in cell activation and recruitment, antigen presentation, cell differentiation in the bone marrow, and in the development and modulation of the inflammatory response in general. The specific biomarkers in bacterial sepsis are Procalcitonin and Presepsin. Procalcitonin and Presepsin are used more and more in humans and veterinary medicine, as scientific experiments have demonstrated their higher reliability in detecting infectious diseases and an important part in the diagnosis of sepsis. Procalcitonin is produced in thyroid C cells and pulmonary-endocrine cells and is the precursor of calcitonin, a hormone that has a metabolic role in calcium homeostasis. Presepsin is a glycopeptide secreted from a CD-14 glycoprotein receptor that plays a physiological role in bacterial phagocytosis.

**Keywords:** Calf, Sepsis, Biomarker, Cytokines, Presepsin, Procalcitonin

## 1.GİRİŞ

Enfeksiyonlara karşı konağın göstermiş olduğu sistemik inflamatuvar yanıt olarak tanımlanan sepsis, morbiditesi ve mortalitesi yüksek bir klinik sendromdur. Neonatal buzağılarda ölümlerin en önemli sebepleri septisemi, diyare ve pnömoni olup, bunlar içerisinde en yaygın olanı sepsistir. Ayrıca diyare ve pnömoni hastalıklarında erken ve etkin bir tedavi yapılamaması durumunda ise ilerleyen aşamalarda sepsis ile ilişkili organ yetmezliği gelişmekte ve ölümler şekillenmektedir (aygün vd.).Yeni doğan buzağılarda sepsis büyük risk oluşturmaktadır. Yeni doğan buzağılarda gelişen sepsis çoğunlukla yüksek mortalite ile sonuçlanmaktadır. Çünkü yeni doğan buzağuların bağışıklık sistemi tam olarak şekillenmemiştir. Bu durumda buzağuların enfeksiyonlara karşı korunmasında kolostrum önemlidir. Solunum yolu, göbek kordonu, uterus, kontamine kolostrum buzağılarda önemli enfeksiyon giriş yollarındandır (Costable,2007).

Veteriner hekimlikte kedilerde sepsis görülme oranının %1-5 olduğu ve tedaviye alınan kedilerde hayatta kalma oranının %10-25, köpeklerde sepsis görülme oranının %6-10 ve hayatta kalma oranının %25-50, taylarda ise %45-55 oranında ölüm olduğu bildirilmiştir (Sanchez, 2005; Otto, 2007). Buzağılara ait sepsis ve sepsise bağlı ölüm oranları ile ilgili veriler net olarak bulunmamaktadır. Buzağılarda gözlenen sepsis ile ilgili ölümler ve tedavi giderleri önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Trefz vd., 2013).

İnsan hekimliğinde de gelişen teknoloji, güçlü antibiyotikler ve gelişmiş yoğun bakım ünitelerine rağmen, sepsisten dolayı meydana ölüm oranı oldukça yüksektir (Raghavan ve Marik, 2006). Sepsisten Amerika'da her yıl yaklaşık 200.000, Avrupa'da ise 150.000'den fazla insan ölmektedir (Angus ve Wax, 2001). Türkiye'de ise her yıl 50.000'den fazla hastada sepsis geliştiği düşünülmekte ve ölüm oranı %16-60 arasındadır (Doğan vd 2020).

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1. SİSTEMİK İNFLAMATUAR YANIT (SIRS)

Organizmanın herhangi bir travma ya da enfeksiyona karşı oluşturduğu ve hipertermi veya hipotermi, taşikardi veya bradikardi, taşipne veya hipokapni, lökositoz veya lökopeni ya da dolaşımda artmış immatür nötrofil sayısı bulgularından en az ikisinin ortaya çıkmasıyla kendisini gösteren sistemik

inflamatuvar yanıtta SIRS (sistemik yangısal cevap sendromu) denir. Vücut sıcaklığı 39 °C' den yüksekse ya da 36 °C' den düşükse, kalp hızı 90 atım/dakikadan fazlaysa, solunum sayısı dakikada 20' den fazla ya da PaCO<sub>2</sub> miktarı 32 mmHg' dan düşükse, lökosit sayısı 12000 hücre /mm<sup>3</sup>' den fazla ya da 4000 hücre /mm<sup>3</sup>' den az ise veya kanda immatür formda lökosit oranı %10' un üzerinde ise; tüm bu bulgulardan en az ikisinin varlığın da SIRS tanımlanır (Fecteau vd., 2009).

## 2.2.SEPSİS

Canlı da bağışıklık sisteminin göstermiş olduğu anormal tepkiye ilaveten enfeksiyon varlığı veya enfeksiyon şüphesi sepsis olarak ifade edilir. Sepsis, SIRS belirtilerinden en az iki tanesine ilaveten enfeksiyonun varlığıdır (Bone vd., 1992; Roy., 2004; Fecteau vd., 2009). Buzağılarda sepsis ve septik şok genellikle yüksek mortalite ile seyretmekte ve ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Yeni doğan buzağılar sepsis ve septik şok gelişimi için büyük risk altındadır çünkü buzağıkların enfeksiyonlardan tamamen korunması kolostral antikörlara bağlıdır. Buzağıklar kontamine çevrede doğduklarında normal bağırsak florası oluşmadan virulent patojenler çoğalarak enfeksiyonun gelişmesine neden olurlar. Solunum yolu (inhalasyon), uterus, göbek kordonu ve kontamine kolostrum (sindirim) buzağıklar için önemli enfeksiyon giriş yollarıdır. Gram negatif bakteriler özellikle E.coli (olguların % 30'unda) septik şoka neden olan en yaygın bakteriyel enfeksiyondur ve buzağı ölümlerinin önemli bir kısmını oluşturmaktadır (Aygün vd.,2017). Sepsisin gelişiminde gram negatif bakteriler en önemli rolü oynamaktadır. Gram-negatif bakteri membranlarından salınan endotoksinler çeşitli organlarda hasar ve kılcal damarlarda dissemine intravasküler koagülasyona (DİK) yol açarak ölümlere neden olmaktadır.

## 2.3. SEPSİSTE BİYOMARKERLARIN ROLÜ

Sepsisin erken teşhisi ve izlenmesi için biyomarkerlarının kullanılması sepsisin yönetimini ve tedavisi için yardımcı olabilir. İnsan tıbbında sepsisin teşhisini ve prognozunu değerlendirmek için 170'den fazla potansiyel biyomarker tanımlanmış olmasına rağmen, bunların pratikte gerçek yararlılığı konusunda hala bir fikir birliği yoktur (Pierrakos ve Vincent, 2010; Ivady ve diğerleri, 2011; Reinhart ve ark., 2011). diğerleri, 2012; Liu ve diğerleri, 2016).

Sepsisin tanısını ve prognozunu geliştirmek veteriner hekimlikte de oldukça önemlidir. Geleneksel olarak hayvanlarda sepsisin teşhisinde en çok kullanılan biyomarkerlar C-Reaktif Protein gibi akut faz proteinleri ve proinflamatuvar sitokinlerdir. Akut faz proteinlerinin sepsis saptama oranları düşüktür çünkü septik olmayan birçok durumda da artarlar, sitokinlerde de bu durum düşük olmalarına ek olarak daha kısa bir yarı ömre sahiptir ve bu durumda sepsisin saptanmasını oldukça zorlaştırır. Bu dezavantajlardan dolayı da veteriner hekimlikte yeni nesil sepsis biyomarkerları ortaya çıkmaktadır (Ercan ve ark., 2016).

Lipopolisakkarit (LPS) endotoksin konsantrasyonları ELISA kitleri ile ölçülmüş ve potansiyel biyomarkerlar olarak bildirilmiştir. Bununla birlikte, LPS molekülleri, numuneyi aldıktan sonraki bir saat içinde önemli ölçüde azalabilir ve heterojen olduklarından dolayı köken aldıkları bakteriye bağlı olarak oldukça değişkendir ve sonuçların yorumlanması oldukça karmaşıktır. Ek olarak, plazmada saptanan LPS molekülleri, bakteriyel enfeksiyonların tedavi edilmesinden sonra kalan LPS'nin küçük bir oranı olabilir ve artık konakçı hücreleri uyaraabilen LPS'nin başlangıç miktarlarını temsil etmez. Bu nedenle, LPS konsantrasyonlarının sınırlı bir klinik faydası vardır (Peek ve diğerleri, 2004; Senior ve diğerleri, 2011; Gnauck ve diğerleri, 2016).

## 3.SEPSİS BİYOMARKERLARI

Sepsis biyomarkerları, geleneksel biyomarkerler, bakteriyel enfeksiyonlara spesifik biyomarkerlar ve sepsiste ek bilgi sağlayabilecek biyomarkerlar olarak sınıflandırılabilir.

### 3.1. Geleneksel Sepsis Biyomarkerleri

Geleneksel biyomarkerler akut faz proteinleri ve sitokinlerdir.

#### 3.1.1. Akut Faz Proteinleri

Akut faz yanıtı, enfeksiyon, enflamasyon veya doku hasarı gibi patojenik durumlara yanıt olarak birinci basamak konakçı savunmasının bir parçasıdır.

Çoğu akut faz proteinin orijini karaciğerdir. AFP'ler dinamiklerine göre akut faz reaksiyonunda konsantrasyonları artıyorsa pozitif, azalıyorsa negatif olarak sınıflandırılabilir. Pozitif AFP'ler ayrıca majör (stimülasyon üzerine çok yüksek ve hızlı artışlar ve stimülasyonun kesilmesinden sonra hızlı düşüşler) ve orta (genel olarak daha hafif ve daha yavaş dinamikler) olarak sınıflandırılabilir. Tepkinin sınıflandırılması ve örüntüsü hayvan türleri arasında farklılık gösterir (Eckersall ve Bell, 2010; Cerón ve diğerleri, 2014).

### 3.1.1.1. C-Reaktif Protein

Bu biomarker pentraksin ailesine aittir ve insanlar ile hayvanlarda sepsis teşhisinde geleneksel olarak en çok kullanılan biyomarkereklardan biridir (Ansar ve Ghosh, 2013; Enguix-Armada ve diğerleri, 2016). C-Reaktif Protein, ruminantlarda ilk defa 1994 yılında inek sütünde tespit edilmiştir.

CRP ölçümü, inflamatuvar yanıtın erken dönemde hızlı ve ekonomik olarak değerlendirilmesine olanak tanıyarak patojen etkenin şiddeti ve tedaviye yanıtı hakkında bilgi verebilir (Flanders ve ark. 2004; Schmit ve Vincent 2008).

Sığırlarda CRP, solunum yolu hastalığı gibi belirli patolojilerde herhangi bir akut artış tanımlanmadığından (Nakajima ve diğerleri, 1993; Prohl ve diğerleri, 2015) CRP genellikle bir APP olarak kabul edilmez, ancak bazı durumlarda hafif CRP artışları göstermiştir. CRP; sürülerin genel durumunun değerlendirilmesinde, paraziter enfeksiyonlarda ve mastit olgularında yararlı sayılabilecek düzeyde artış gösterir (Lee ve ark., 2003; Hussain ve ark., 2015; Akgül ve ark. , 2019; Appelt ve diğerleri, 2019; Dalanezi ve diğerleri, 2020).

### 3.1.1.2. Serum Amyloid A (SAA)

Serum amiloid A, reaktif amiloidozda yer alması nedeniyle bu şekilde adlandırılmıştır, fakat farelerde yapılan çalışmalar sonucunda amiloid birikimlerinde sadece bir izoform (SAA-2) bulunmuştur (Çitil; 2003). Serum amiloid A (SAA), High Density Lipoprotein (HDL) ile ilişkili serumda bulunan küçük bir hidrofobik proteindir (9 ila 14 kDa) (Hajimohammadi ve ark., 2013).

Veteriner hekimlikte SAA, atlar, sığır ve domuzlarda da başlıca AFP'lerden biri olarak kabul edilir (Hulten ve Demmers, 2002; Pradeep, 2014). Viral enfeksiyonlar da dahil olmak üzere farklı yapıdaki deneysel ve doğal enfeksiyonlarda konsantrasyonu artar (Campbell ve diğerleri, 2005; Kabu ve diğerleri, 2016; Joshi ve diğerleri, 2018). ve diğerleri, 2007). Bu vakaların bazılarında, etken ortadan kaldırılrsa dahi SAA bir süre daha yüksek kalabilir (Aitken ve diğerleri, 2019). Otomatik analizörlere uyarlanabilen immünotürbidimetrik testlerin varlığı, bu AFP'nin rutin teşhiste kullanılmasına izin verir (Franco-Martínez ve diğerleri, 2021).

### 3.1.1.3. Haptoglobin (Hp)

Hp, eritrositlerden salınan serbest hemoglobini bağlayarak hem kalıntısının kullanılabilirliğini azaltan, dokularda oksidatif hasarı önleyen, indirekt bakteriyostatik ve immünomodülatör etkilere sahip bir  $\alpha_2$ -globülinidir (Petersen ve ark., 2004; Tthov ve ark., 2013). Hp, septisemi dahil deneysel ve doğal enfeksiyonlarda orta derecede yükselir ve yarılanma ömrü 3-5 gündür (Jain ve ark., 2011; Coşkun ve Şen, 2012; Joshi ve ark., 2018; Kirbas ve ark., 2019). Hp, sığırlarda önemli bir AFP'dir ve SAA ile kombinasyon halinde Hp, akut ve kronik enflamasyonun teşhisinde ve ayırımında potansiyel olarak kullanılabilir (Eckersall and Bell, 2010). Hp konsantrasyonları ayrıca lokal aseptik inflamasyon, yağlı karaciğer sendromu, nakil ve ameliyat sonrası gibi enfeksiyöz olmayan patolojilerde de yükselebilir (Guzelbektas ve diğerleri, 2010; Heinonen ve ark., 2010;).

### 3.1.1.4. Sitokinler

Sitokinler, inflamutavar reaksiyonların başlangıç araçları olarak doğal immün yanıt sırasında salınan geniş bir protein grubudur. Bir uyaradan sonra oluşan bağışıklığı düzenler, hücrenin aktivasyonu ve toplanmasında, antijen sunumunda, kemik iliğinde hücre farklılaşmasında ve genel olarak inflamutavar yanıtın geliştirilmesinde ve modülasyonunda esas rolü oynar (López-Martínez ve ark., 2022).

İnsanlarda ve hayvanlarda en sık incelenen sitokinlerden ikisi TNF- $\alpha$  ve IL-6'dır. Her ikisinin de indüklenmiş endotoksemi ve bakteriyel enfeksiyonlar gibi ağırlıklı olarak deneysel koşullar altında

domuz ve sığırlarda arttığı gözlemlenmiştir (Başoğlu ve diğerleri, 2004; Castellheim ve diğerleri, 2008; Ballou ve diğerleri, 2011; Wyns ve diğerleri, 2015).

Sitokinler, sepsisin ciddiyetini değerlendirmede ve etiyolojisini belirlemede yardımcı olur. Örneğin, plazma IL-6 bakteriyel enfeksiyonlarda daha fazla artar ve IL-8 veya IL-18 konsantrasyonları, nedensel ajan sırasıyla Gram-negatif veya Gram-pozitif bir bakteri olduğunda daha yüksektir (López-Martínez ve ark., 2022).

### 3.1.2. Bakteriyel Sepsisteki Spesifik Biomarkerlar

Procalcitonin ve Presepsin, bulaşıcı hastalıkları tespit etmede daha yüksek güvenilirlikleri ve sepsisin teşhisinde önemli bir parça olduğu bilimsel deneyler tarafından ortaya konduğu için insanlarda gündün güne daha çok kullanılmaktadır (López-Martínez ve ark., 2022). Veteriner hekimlikte de bu iki biyomarker üstüne çalışmalar yapılmıştır.

#### 3.1.2.1. Procalcitonin (PCT)

Bu glikoprotein esas olarak tiroid C hücrelerinde ve pulmoner-endokrin hücrelerde üretilir ve kalsiyum homeostazında metabolik rolü olan bir hormon olan kalsitoninin öncüsüdür (Becker ve diğerleri, 2010).

Sepsis gibi bazı patolojik durumlarda, proinflamatuvar mediatörlerdeki masif kalsitoninler mRNA ekspresyonunu indükler ve birçok dokuda tiroid dışı PCT üretilir. Bu dokularda salgı granülleri bulunmadığından dolayı PCT, kalsitonine dönüştürülmeden kan dolaşımına salınır (Morgenthaler ve ark., 2003; Matur ve ark., 2017). PCT konsantrasyonu 25-30 saatlik bir yarılanma ömrü ile binlerce kata çıkabilir, 3 saatten sonra artmaya başlar ve 6 saatte maksimum seviyelere ulaşır (Nijsten ve diğerleri, 2000; Carrol ve diğerleri, 2002).

İlk çalışmalar, yoğun PCT üretiminin sepsis hastalarında sıklıkla görülen hipokalsemi ile ilişkili olabileceğini göstermiştir fakat bununla birlikte, bu hipotez desteklenmemiştir çünkü masif kalsitonin seviyeleri genellikle sepsis sırasında artmamıştır ve şu anda hipokalseminin nedeninin çok faktörlü olabileceği varsayılmaktadır (Holowaychuk ve Martin, 2007).

Genel olarak, hipokalseminin varlığı sepsisin spesifik bir biyolojik belirteci gibi görünmemektedir çünkü hipoparatiroidizm, psödohipoparatiroidizm, hipomagnezemi, hiperfosfatemi, pankreatit veya D vitamini eksikliği gibi bazı karaciğer ve bağırsak sorunları tarafından da tetiklenebilen başka nedenlerle de sekonder olarak üretilebilir (Kelly ve Levine, 2013).

Bugüne kadar PCT'nin sepsisteki rolü net değildir. Nötrofiller ve lenfositler üzerindeki yüzey belirteçlerinin ekspresyonunu artırarak veya hücre içi kalsiyum iyonlarının konsantrasyonunu artırarak proinflamatuvar bir etki oluşturduğunu gösteren çalışmalar vardır, diğer çalışmalar ise olası bir anti-inflamatuvar rolü olduğu bildirilmiştir bildirmiştir (Lopez Martinez ve ark., 2022).

Bir sepsis biyobelirteci olarak PCT'nin ana avantajları, kanda sitokinlere göre daha uzun yarı ömürleri olması ve stabil olarak kalması ayrıca bakteriyel enfeksiyonlara karşı oluşan yanıtları saptamakta AFP'ler ve sitokinlere göre daha yüksek güvenilirliktedir (Lopez Martinez ve ark., 2022).

Sığırlarla ilgili olarak, sistemik kolibasilozda, sepsisli yeni doğan buzağılarda ve sol abomasum deplasmanı olan ineklerde PCT konsantrasyonlarında artışlar gözlenmiştir. (Ercan ve diğerleri, 2016; Bonelli ve diğerleri, 2018; Kirbaş ve diğerleri, 2019).

#### 3.1.2.2. Presepsin (PSE)

Bakteriyel fagositozda fizyolojik rol oynayan bir CD-14 glikoprotein reseptöründen salgılanan bir glikopeptiddir. Sepsiste, PSE seviyeleri PCT veya IL-6'dan önce yükselir. PSE, gram-negatif bakterilerin hücre duvarının lipopolisakkaritlerinde bulunan reseptörlerden biridir. Kore'de yapılan bir çalışma, enfeksiyondan sonra presepsin düzeylerinin, enfekte olmayan hastalara kıyasla önemli ölçüde arttığını ve presepsinin sepsis tanısını öngörmedeki etkisinin PCT'den (0,915), IL-6'dan (0,869) veya yüksek hassasiyetli CRP'den (0,853) daha güvenilir olduğu tespit edilmiştir.

Veteriner hekimlikte tam olarak kullanım sahaları tespit edilemese de endotoksemik atlarda, septisemili taylarda ve hava yolu tıkanıklarını bulunan atlarda PSE'nin artış gösterdiği bildirilmiştir. Bu

yüzden çiftlik hayvanlarda etkisinin görülebilmesi için daha çok çalışma yapılması gerekmektedir (Lopez Martinez ve ark., 2022).

### 3.2. SEPSİS TEŞHİSİNDE YARDIMCI OLABİLECEK BİOMARKERLAR

#### 3.2.1. sTREM-1 (Soluble Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells-1)

Trem-1 ekspresyonu nötrofiller üzerinde düzenlenen; bakteri ve mantarlar tarafından başlatılan inflamatuvar yanıtı aracılık eden immunoglobülin ailesinin bir reseptörüdür (Bouchon ve ark., 2001). TREM-1 aktive edilmiş hücre zarlarında çözünür ve ölçülebilir formda salınır (sTREM-1). İnsanlarda yapılan çalışmalarda sepsis sırasında yüksek konsantrasyonlarda olduğu bildirilmiştir. Veteriner sahada da solunum yolu enfeksiyonları olan atlarda önemli artışlar gözlenirse de halen yapılan çalışmalar halen yetersizdir.

#### 3.2.2. Lipopolisakkarit Bağlayıcı Protein (Lipopolysaccharide-binding protein (LBP))

LBP bir proteindir. Gram-negatif bakterilerin LPS'si ile etkileşime girer ve sonunda proinflamatuvar sitokin üretimine yol açan bir dizi olayı başlatır. Bazı çalışmalarda LBP, insan hastalarda enfeksiyöz hastalığa işaret etmiştir, ancak diğer vakalarda, bu biyobelirteç yalnızca organ yetmezliği olan hastalarda enfeksiyöz etiyolojileri ayırt etmiştir ve hastalığın ciddiyeti ile korelasyonu zayıf olmuştur (Ouderkerk ve ark., 2003; Sakr ve diğerleri, 2008). Veteriner hekimlik ile ilgili olarak, deneysel olarak Mannheimia haemolytica ile enfekte olmuş bir grup buzağıda LBP'nin önemli ölçüde ve Hp'den daha hızlı arttığı bir çalışma vardır (Schroedl ve ark., 2001).

#### 3.2.3. MMP-9. Matris-metaloproteinazlar (MMP'ler)

Doku yaralanmasının iyileşmesi ve yeniden şekillenme ile ilgili bir endoproteinaz ailesidir. Şiddetli sepsisi olan kişilerde MMP-9 konsantrasyonları yükselir ve analizi hastalığın sonucunu belirlemeye yardımcı olabilir (Hoffmann ve diğerleri, 2006, 2009). Pasteurella multocida ve Mycoplasma bovirhinis ile eş zamanlı enfeksiyonları olan buzağılarda bronkoalveolar lavaj sıvısında daha yüksek MMP-9 konsantrasyonları bulunmuştur (Girard ve diğerleri, 2001). Sığırlarda, endotoksin ile indüklenen mastitten sonra sütte ve deneysel olarak indüklenen bir septik artrit sonra sinoviyal sıvıda daha yüksek aktivite bildirilmiştir (Raulo ve diğerleri, 2002; Francoz ve diğerleri, 2008). Ayrıca MMP-9, Hp'ye kovalent olarak bağlanabilir ve degranülasyon meydana geldiğinde nötrofiller tarafından MMP9-Hp kompleksleri olarak salınabilir. Bu kompleksler ilk olarak akut polimikrobiyal sepsisli sığırların serumunda tespit edilmiş ve daha sonra LPS infüzyonundan sonra yüksek konsantrasyonlarda bulunmuştur (Hinds ve diğerleri, 2014).

### 3.3. SEPSİSE EK BİLGİ SAĞLAYACAK BİOMARKERLAR

#### 3.3.1. Endotel Hasar Biyomarkerları

Endotel sistem homeostazda önemli bir rol oynar. Endotel hasarı ve işlev bozukluğu; organlardaki işlev bozukluğu ve septik şok gibi sıklıkla sepsise eşlik eden komplikasyonlara yol açabilir. Endotel hasarı biyobelirteçlerinin örnekleri; neopterin, anjiyopoietinler, endokan, vasküler hücre adezyon molekülü-1, vasküler endotelyal büyüme faktörü, trombosit kaynaklı büyüme faktörü veya adrenomedullindir (Christ-crain ve diğerleri, 2005; Pierrakos ve Vincent, 2010; Paulus ve diğerleri, 2011; Giannakopoulos ve diğerleri, 2017). Veteriner hekimlikte septisemik kolibasillozisi buzağılarda neopterin anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. (Ercan ve ark. 2016).

#### 3.3.2. Organik işlev bozukluğu belirteçleri

Bu biyobelirteçlerin bazı örnekleri laktat, endotelin-1 (ET-1) ve atriyal natriüretik peptid ile mid-regional proatriyal natriüretik peptid gibi natriüretik peptidlerdir. Bu belirteçler, hayati riski bulunan hastaların hayatta kalma olasılığının erken tahmin edicileri olarak değerli olabilir (Brauner ve diğerleri, 2000; Rivers ve diğerleri, 2007; Mikkelsen ve diğerleri, 2009). Hayvanlarda, domuzlarda sepsisin deneysel olarak indüklenmesinden sonra laktatta bir artış rapor edildi ve bu belirteç, SIRS'li atlarda daha yüksek ölüm oranlarıyla ilişkilendirildi (Corley ve diğerleri, 2010; Tóth ve diğerleri, 2017).). ET-1 ile ilgili olarak, domuzlarda deneysel sepsis indüksiyonundan sonra dokularda daha yüksek plazma konsantrasyonları ve mRNA seviyeleri gözlemlendi (Zannoni ve diğerleri, 2010).

### 3.3.3. Pıhtılaşma Sisteminin Belirteçleri

Sepsiste trombosit sayısı, antitrombin, protein C ve S, aktive parsiyel tromboplastin zamanı, D-dimer veya fibrindeki değişiklikleri gözlemek çok yoğun olarak kullanılan işlemlerdir. Bu değişiklikler spesifik değildir. Kanser, travma ve vasküler veya immün bozukluklar gibi diğer patolojilerde de ortaya çıkabilir, ancak sepsis sırasında bunların incelenmesi prognoz ve tedavinin değerlendirilmesi için yararlıdır. Atlarda ve sığırlarda daha yararlı görünen pıhtılaşma belirteçleri fibrinojen ve D-dimerdir, ancak daha fazlası araştırmaya ihtiyaç vardır (Lopez Martinez ve ark.; 2022).

## 4. SONUÇ

Genel olarak, üç grubun her bir biyomarkeri sepsiste kullanılabilir ve tamamlayıcı bilgi sağlayabilir. AFP'ler ve sitokinler, sepsis için spesifik olmasalar da bu durumla ilişkili enflamasyonun göstergesidir, hastalığın gelişimini izleyebilir ve hastanın prognozunu belirleyebilir. PCT, PSE ve sTREM-1, LBP ve MMP-9 gibi diğer moleküller, bakteriyel sepsis teşhisini kolaylaştırdıkları için büyük bir potansiyele sahiptir. Son olarak, üçüncü grubun biyobelirteçleri olan endotel hasarı, organik işlev bozukluğu ve pıhtılaşma sistemindeki değişikliklerin değerlendirilmesi yoluyla hastaların prognozu için ek bilgi sağlar.

## 5.KAYNAKLAR

Aitken MR, Stefanovski D and Southwood LL (2019) Serum amyloid A concentration in postoperative colic horses and its association with post-operative complications. *Veterinary Surgery* 48, 143–151.

Akgül Y, Aya AK, Ilmaz NY and Özkan C (2019) Evaluation of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukins (IL-6, IL-8) and C-reactive protein (CRP) levels in neonatal calves with presumed septicemia. *Van Veterinary Journal* 30, 167–173.

Angus, D.C., Linde-Zwirble, W.T., Lidicker, J., Clermon, G., Carcillo, J., and Pinsky, M.R., 2001. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Critical Care Medicine*, 29(7), 1303–1310.

Ansar W and Ghosh S (2013) C-reactive protein and the biology of disease. *Immunologic Research* 56, 131–142.

Appelt MA, da Silva AS, Cazarotto CJ, Machado G, Rodrigues RS, Norbury LJ, Baldissera MD, Alba DF, Gris A and Mendes RE (2019) Cholinesterase as an inflammatory marker of subclinical infection of dairy cows infected by *Neospora caninum* and risk factors for disease.

Aygün O. (2017), *Sepsis şüpheli buzağılarda trombomodulin ve pentraksin-3 belirteçlerinin diyagnostik önemi* (Yüksek Lisans Tezi). <https://tez.yok.gov.tr/> (Erişim Tarihi: 25.12.2022)

Ballou MA, Cobb CJ, Hulbert LE and Carroll JA (2011) Effects of intravenous *Escherichia coli* dose on the pathophysiological response of colostrum-fed Jersey calves. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 141, 76–83.

Basoglu A, Sen I, Sevinc M and Simsek A (2004) Serum concentrations of tumor necrosis factor- $\alpha$  in neonatal calves with presumed septicemia. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 18, 238–241.

Becker KL, Snider R and Nylen ES (2010) Procalcitonin in sepsis and systemic inflammation: a harmful biomarker and a therapeutic target. *British Journal of Pharmacology* 159, 253–264.

Bone, R.C., Balk, R.A., Cerra, F.B., Dellinger, R.P., Fein, A.M., Knaus, W.A., Schein, R.M., Sibbald, W.J., 1992. Definitions for Sepsis and Organ Failure and Guidelines for the Use of Innovative Therapies in Sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. *American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine*, 101(6), 1644-1655.

Bonelli F, Meucci V, Divers TJ, Boccardo A, Pravettoni D, Meylan M, Belloli AG and Sgorbini M (2018) Plasma procalcitonin concentration in healthy calves and those with septic systemic inflammatory response syndrome. *Veterinary Journal* 234, 61–65.

Bouchard, C., Bouchard, C., & Ordovas, J. M. (Eds.). (2012). *Progress in molecular biology and translational science*. Academic Press.

- Bouchon A, Facchetti F, Weigand MA and Colonna M (2001) TREM-1 amplifies inflammation and is a crucial mediator of septic shock. *Nature* 410, 1103–1107.
- Brauner JS, Rohde LE and Clausell N (2000) Circulating endothelin-1 and tumor necrosis factor- $\alpha$ : early predictors of mortality in patients with septic shock. *Intensive Care Medicine* 26, 305–313.
- Campbell FM, Lampreave F and Heegaard PMH (2006) The porcine acute phase protein response to acute clinical and subclinical experimental infection with *Streptococcus suis*. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 113, 157–168.
- Carrol ED, Thomson APJ and Hart CA (2002) Procalcitonin as a marker of sepsis. *International Journal of Antimicrobial Agents* 20, 1–9.
- Castellheim A, Thorgersen EB, Hellerud BC, Pharo A, Johansen HT, Brosstad F, Gaustad P, Brun H, Fosse E, Tønnessen TI, Nielsen EW and Mollnes TE (2008) New biomarkers in an acute model of live *Escherichia coli*-induced sepsis in pigs. *Scandinavian Journal of Immunology* 68, 75–84.
- Cerón JJ, Martínez-Subiela S, Tecles F and Caldin M (2014) Acute phase proteins in diagnostics: more than expected. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society* 65, 197–204.
- Christ-crain M, Morgenthaler NG, Struck J, Harbarth S, Bergmann A and Müller B (2005) Mid-regional pro-adrenomedullin as a prognostic marker in sepsis: an observational study. *Critical care (London, England)* 9, 816–824.
- Constable, P.D., 2007. General Medicine. *Veterinary Medicine Ed Radostits OM, 10th ed. Salinders, USA, 51-58.*
- Corley KTT, Donaldson LL and Furr MO (2010) Arterial lactate concentration, hospital survival, sepsis and SIRS in critically ill neonatal foals. *Equine Veterinary Journal* 37, 53–59.
- Coskun A and Sen L (2012) Acute phase response and clinical changes in calves with lipopolysaccharide induced endotoxemia.
- Çitil M.(2003): Puerperal infeksiyonlu ve abomasum deplasmanlı ineklerde Serum Amiloid A ve haptoglobin düzeyleri. *Kafkas ÜnivVet Fak Derg.*,9(2), 147-51.
- Dalanezi FM, Schmidt EMS, Joaquim SF, Guimarães FF, Guerra ST, Lopes BC, Cerri RLA, Chadwick C and Langoni H (2020) Concentrations of acute-phase proteins in milk from cows with clinical mastitis caused by different pathogens. *Pathogens* 9, 1–12.
- Doğan A.(2020), Buzağılarda sepsis patogeneğinde RIPK1, RIPK2 Ve RIPK3 ifadesinin rolü (Yüksek Lisans Tezi). <https://tez.yok.gov.tr/> (Erişim Tarihi: 20.12.2022)
- Eckersall PD and Bell R (2010) Acute phase proteins: biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. *Veterinary Journal* 185, 23–27.
- Enguix-Armada A, Escobar-Conesa R, La Torre AG-D and De La Torre-Prados MV (2016) Usefulness of several biomarkers in the management of septic patients: C-reactive protein, procalcitonin, presepsin and mid-regional pro-adrenomedullin. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 54, 163–168.
- Ercan N, Tuzcu N, Başbug O, Tuzcu M and Alim A (2016) Diagnostic value of serum procalcitonin, neopterin, and gamma interferon in neonatal calves with septicemic colibacillosis. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 28, 180–183.
- Fecteau, G., Smith, BP., George, LW., 2009. Septicemia and meningitis in the newborn calf. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 25(1), 195-208.
- Flanders SA, Stein J, Shochat G, Sellers K, Holland M, Maselli J, Drew WL, Reingold AL and Gonzales R (2004) Performance of a bedside C-reactive protein test in the diagnosis of community-acquired pneumonia in adults with acute cough. *American Journal of Medicine* 116, 529–535.
- Franco-Martínez L, Muñoz-Prieto A, Contreras-Aguilar MD, Želvytė R, Monkevičienė I, Horvatić A, Kuleš J, Mrljak V, Cerón JJ and Escibano D (2021) Changes in saliva proteins in cows with mastitis: a proteomic approach. *Research in Veterinary Science* 140, 91–99.

- Francoz D, Desrochers A, Simard N, Saint Pierre Y, Fecteau G, Latouche JS and Fortin M (2008) Relative expression of matrix metalloproteinase-2 and -9 in synovial fluid from healthy calves and calves with experimentally induced septic arthritis. *American Journal of Veterinary Research* 69, 1022–1028.
- Giannakopoulos K, Hoffmann U, Ansari U, Bertsch T, Borggreffe M, Akin I and Behnes M (2017) The use of biomarkers in sepsis: a systematic review. *Current Pharmaceutical Biotechnology* 18, 499–507.
- Girard M, Cl  roux P, Tremblay P, Dea S and St-Pierre Y (2001) Increased proteolytic activity and matrix metalloprotease expression in lungs during infection by porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Journal of General Virology* 82, 1253–1261.
- Guzelbektes H, Sen I, Ok M, Constable PD, Boydak M and Coskun A (2010) Serum amyloid a and haptoglobin concentrations and liver fat percentage in lactating dairy cows with abomasal displacement. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 24, 213–219.
- Hajimohammadi A, Nazifi S, Ansari-Lari M, Khoshmanzar MR, Bigdeli SM (2013): Identifying relationships among acute phase proteins (haptoglobin, serum amyloid A, fibrinogen, ceruloplasmin) and clinical findings in dairy calf diarrhea. *Comp Clin Pathol.*,22(2), 227-232.
- Heinonen M, Orro T, Kokkonen T, Munsterhjelm C, Peltoniemi O and Valros A (2010) Tail biting induces a strong acute phase response and tail-end inflammation in finishing pigs. *Veterinary Journal* 184, 303–307.
- Hinds CA, Niehaus AJ, Premanandan C, Rajala-Schultz PJ, Rings DM and Lakritz J (2014) Characterization of the contributions of Hp-MMP 9 to the serum acute phase protein response of lipopolysaccharide challenged calves. *BMC Veterinary Research* 10, 1–9.
- Holowaychuk MK and Martin LG (2007) Review of hypocalcemia in septic patients: state-of-the-art review. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 17, 348–358.
- Hulten C and Demmers S (2002) Serum amyloid A (SAA) as an aid in the management of infectious disease in the foal: comparison with total leucocyte count, neutrophil count and fibrinogen. *Equine Veterinary Journal* 34, 693–698.
- Hussain SA, Uppal SK, Randhawa CS and Sood NK (2015) Bovine intestinal obstruction: blood gas analysis, serum C-reactive protein and clinical, haematological and biochemical alterations. *Journal of Applied Animal Research* 43, 224–230.
- Ivady B, Beres BJ and Szabo D (2011) Recent advances in sepsis research: novel biomarkers and therapeutic targets. *Current Medicinal Chemistry* 18, 3211–3225.
- Jain S, Gautam V and Naseem S (2011) Acute-phase proteins: as diagnostic tool. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences* 3, 118–127.
- Joshi V, Gupta VK, Bhanuprakash AG, Mandal RSK, Dimri U and Ajith Y (2018) Haptoglobin and serum amyloid A as putative biomarker candidates of naturally occurring bovine respiratory disease in dairy calves. *Microbial Pathogenesis* 116, 33–37.
- Joshi V, Gupta VK, Bhanuprakash AG, Mandal RSK, Dimri U and Ajith Y (2018) Haptoglobin and serum amyloid A as putative biomarker candidates of naturally occurring bovine respiratory disease in dairy calves. *Microbial Pathogenesis* 116, 33–37.
- Kabu M, Elitok B and Kucukkurt I (2016) Detection of serum amyloid-A concentration in the calf clinically diagnosed with pneumonia, enteritis and pneumoenteritis. *Ci  ncia Rural* 46, 293–299.
- Kelly A and Levine MA (2013) Hypocalcemia in the critically ill patient. *Journal of Intensive Care Medicine* 28, 166–177.
- Kirbas A, Kandemir FM, Celebi D, Hanedan B and Timurkan MO (2019) The use of inflammatory markers as a diagnostic and prognostic approach in neonatal calves with septicaemia. *Acta Veterinaria Hungarica* 67, 360–376



- Kirbas A, Kandemir FM, Celebi D, Hanedan B and Timurkan MO (2019) The use of inflammatory markers as a diagnostic and prognostic approach in neonatal calves with septicaemia. *Acta Veterinaria Hungarica* 67, 360–376
- Lee WC, Hsiao HC, Wu YL, Lin JH, Lee YP, Fung HP, Chen HH, Chen YH and Chu RM (2003) Serum C-reactive protein in dairy herds. *Canadian Journal of Veterinary Research* 67, 102–107.
- Liu Y, Hou J-h, Li Q, Chen K-j, Wang SN and Wang J-m (2016) Biomarkers for diagnosis of sepsis in patients with systemic inflammatory response syndrome: a systematic review and meta-analysis. *SpringerPlus* 5, 2091.
- López-Martínez, M. J., Franco-Martínez, L., Martínez-Subiela, S., & Cerón, J. J. (2022). Biomarkers of sepsis in pigs, horses and cattle: from acute phase proteins to procalcitonin. *Animal Health Research Reviews*, 1-18.
- Matur E, Eraslan E and Çöteliöglü Ü (2017) Biology of procalcitonin and its potential role in veterinary medicine. *Journal of Istanbul Veterinary Sciences* 1, 16–27.
- Mikkelsen ME, Miltiades AN, Gaieski DF, Goyal M, Fuchs BD, Shah CV, Bellamy SL and Christie JD (2009) Serum lactate is associated with mortality in severe sepsis independent of organ failure and shock. *Critical Care Medicine* 37, 1670–1677.
- Morgenthaler NG, Struck J, Chancerelle Y, Weglöhner W, Agay D, Bohuon C, Suarez-Domenech V, Bergmann A and Müller B (2003) Production of procalcitonin (PCT) in non-thyroidal tissue after LPS injection. *Hormone and Metabolic Research* 35, 290–295.
- Nakajima Y, Momotani E, Murakami T, Ishikawa Y, Morimatsu M, Saito M, Suzuki H and Yasukawa K (1993) Induction of acute phase protein by recombinant human interleukin-6 (IL-6) in calves. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 35, 385–391.
- Nijsten MWN, Olinga P, Hauw The T, De Vries EGE, Koops HS, Groothuis GMM, Limburg PC, Ten Duis HJ, Moshage H, Hoekstra HJ, Bijzet J and Zwaveling JH (2000) Procalcitonin behaves as a fast responding acute phase protein in vivo and in vitro. *Critical Care Medicine* 28, 458–461.
- Ouderkirk JP, Nord JA, Turett GS and Kislak JW (2003) Polymyxin B nephrotoxicity and efficacy against nosocomial infections caused by multi-resistant gram-negative bacteria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 47, 2659–2662.
- Paulus P, Jennewein C and Zacharowski K (2011) Biomarkers of endothelial dysfunction: can they help us deciphering systemic inflammation and sepsis? *Biomarkers* 16, S11–S21.
- Peek SF, Borah S, Semrad S, McGuirk S, Slack JA, Patton E, Coombs D, Lien L and Darien BJ (2004) Plasma endotoxin concentration in horses: a methods study. *Veterinary Clinical Pathology* 33, 29–31.
- Petersen HH, Nielsen JP and Heegaard PMH (2004) Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *Veterinary Research* 35, 163–187.
- Pierrakos C and Vincent JL (2010) Sepsis biomarkers: a review. *Critical Care* 14, 1–18.
- Pradeep M (2014) Application of acute phase proteins as biomarkers in modern veterinary practice. *Indian Journal of Veterinary and Animal Science* 43, 1–13.
- Prohl A, Schroedl W, Rhode H and Reinhold P (2015) Acute phase proteins as local biomarkers of respiratory infection in calves. *BMC Veterinary Research* 11, 1–14.
- Raghavan, M., Marik, P.E., 2006. Management of sepsis during the early “golden hours”. *The Journal of Emergency Medicine*, 31(2), 185–199.
- Raulo SM, Sorsa T, Tervahartiala T, Latvanen T, Pirilä E, Hirvonen J and Maisi P (2002) Increase in milk metalloproteinase activity and vascular permeability in bovine endotoxin-induced and naturally occurring *Escherichia coli* mastitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 85, 137–145.
- Reinhart K, Bauer M, Riedemann NC and Hartog CS (2012) New approaches to sepsis: molecular diagnostics and biomarkers. *Clinical Microbiology Reviews* 25, 609–634.

- Rivers EP, McCord J, Otero R, Jacobsen G and Loomba M (2007) Clinical utility of B-type natriuretic peptide in early severe sepsis and septic shock. *Journal of Intensive Care Medicine* 22, 363–373.
- Roy, M.F., 2004. Sepsis in adults and foals. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 20(1), 41– 61.
- Sakr Y, Burgett U, Nacul FE, Reinhart K and Brunkhorst F (2008) Lipopolysaccharide binding protein in a surgical intensive care unit: a marker of sepsis? *Critical Care Medicine* 36, 2014–2022.
- Sanchez, L.C., 2005. Equine neonatal sepsis. *Vet Clin North Am Equine Pract*, Aug, 21, 273-93.
- Schmit X and Vincent JL (2008) The time course of blood C-reactive protein concentrations in relation to the response to initial antimicrobial therapy in patients with sepsis. *Infection* 36, 213–219.
- Schroedl W, Fuerll B, Reinhold P, Krueger M and Schuett C (2001) A novel acute phase marker in cattle: lipopolysaccharide binding protein (LBP). *Journal of Endotoxin Research* 7, 49–52.
- Tóth J, Debreceni IB, Berhés M, Hajdú E, Deák Á, Pet K, Szabó J, Németh N, Fülesdi B and Kappelmayer J (2017) Red blood cell and platelet parameters are sepsis predictors in an *Escherichia coli* induced lethal porcine model. *Clinical Hemorheology and Microcirculation* 66, 249–259.
- Trefz, F.M., Lorch, A., Feist, M., Sauter-Louis, C., Lorenz, I., 2013. *The Prevalence and Clinical Relevance of Hyperkalaemia in Calves with Neonatal Diarrhoea. Journal of Veterinary Science*, 195(3), 350-356.
- Tthov C, NagyO and Kov G (2013) Chapter 5: The use of Acute Phase Proteins as Biomarkers of Diseases in Cattle and Swine. In Sabina Janciauskiene (Ed.). *Acute Phase Proteins*. doi: 10.5772/55857
- Wyns H, Croubels S, Vandekerckhove M, Demeyere K, De Backer P, Goddeeris BM and Meyer E (2015) Multiplex analysis of pro-inflammatory cytokines in serum of *Actinobacillus pleuropneumoniae*-infected pigs. *Research in Veterinary Science* 102, 45–48.
- Zannoni A, Bernardini C, Gentilini F, Giunti M, Bacci ML and Forni M (2010) Pulmonary kinetic expression of the endothelin system in a swine model of endotoxic shock. *Veterinary Research Communications* 34, 24–27.

**AĞRI YÖRESİNDE SIĞIRLARDA GASTROİNTESTİNAL NEMATODLARIN  
YAYGINLIĞI**

**THE PREVALENCE OF GASTROİNTESTINAL NEMATODES IN CATTLE IN AĞRI  
REGION, TÜRKİYE**

***Nilgün AYDIN***

*Dr. Öğr. Üyesi, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Klinik Öncesi Bilimler Bölümü, Parazitoloji  
Anabilim Dalı,*

*ORCID ID: 0000-0002-0571-7882*

***Cuma SALTAN***

*Doktora Öğrencisi, Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Parazitoloji Anabilim Dalı*

*ORCID ID: 0000-0002-5754-2885*

***Gencay Taşkın TAŞÇI***

*Doç. Dr., Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Klinik Öncesi Bilimler Bölümü, Parazitoloji  
Anabilim Dalı*

*ORCID ID: 0000-0002-8590-1101*

**ÖZET**

Bu çalışma Ağrı yöresinde sığırlarda gastrointestinal nematodların yaygınlığını belirlemek amacıyla yapılmıştır. Araştırma materyalini Ağrı iline bağlı 6 odaktaki (Ağrı Merkez, Aslangazi, Çamurlu, Kalender, Yakınca, Yazıcı) işletmelerde bulunan 188 sığır dışkı örneği oluşturmuştur. Sığırların rektumundan alınan dışkı örnekleri santrifüj flotasyon yöntemiyle gastrointestinal nematod yumurtalarının varlığı yönünden incelenmiştir. Yapılan mikroskopik muayeneler neticesinde 6 odakta bulunan toplam 188 sığırın 145'inde (145/188, %77) Trichostrongyloid tip yumurta, 31'inde (31/188, %16) *Toxocara vitulorum*, 17'sinde (17/188, %9) *Trichuris* spp. ve 9'unda (9/188,%5) *Nematodirus* spp. yumurtası görülmüştür.

Ağrı yöresinde yapılan bu çalışmada flotasyon yöntemiyle incelenen sığır dışkılarında çok sayıda gastrointestinal nematod yumurtası görülmüştür. Elde edilen bulgular yörede bu enfeksiyonların yaygın olduğunu göstermekle birlikte, bu enfeksiyonlara yönelik olarak yetiştiricilerin bilinçlendirilmesi, etkili ve sürdürülebilir kontrol programlarının uygulanması ve yörede daha detaylı çalışmaların yapılması gerektiğini ortaya koymuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Ağrı, sığır, gastrointestinal nematod, prevalans

**ABSTRACT**

This study was carried out to determine the prevalence of gastrointestinal nematodes in cattle in Ağrı region. The research material consists of 188 cattle fecal samples from the enterprises in 6 foci (Ağrı Merkez, Aslangazi, Çamurlu, Kalender, Yakınca, Yazıcı) in Ağrı province. Stool samples were taken from the rectum of cattle and examined for the presence of gastrointestinal nematode eggs by centrifugal flotation method. As a result of the examinations, Trichostrongyloid type eggs were found in 145 (145/188, 77%) of 188 cattle in 6 foci, *Toxocara vitulorum* in 31 (31/188, 16%), *Trichuris* spp. in 17 (17/188, 9%), and *Nematodirus* spp. in 9 (9/188, 5%) cattle. In this study conducted in Ağrı region, many gastrointestinal parasite eggs were observed in cattle feces analyzed by flotation method. The findings were shown that these infections are common, and it is necessary to raise awareness of the breeders about these infections, to implement effective and sustainable control programs, and to carry out more detailed studies in the region.

**Key words:** Ağrı, cattle, gastrointestinal nematodes, prevalence

## GİRİŞ

Sığırlar insanoğlunun etinden, sütünden, derisinden ve iş gücünden yararlanmak amacıyla evcilleştirdiği ilk hayvanlardandır. İnsan beslenmesinde sığır etine büyük oranda talep olduğundan, bu hayvan türünün yetiştiriciliğinin ve hastalıklarıyla mücadelesinin önemi gittikçe artmaktadır. Zira dünya süt üretiminin neredeyse tamamı, süt üretiminin de %25'i sığırlardan karşılanmaktadır. Ancak, yetiştirme hataları, bakım besleme koşullarının elverişsizliği ve viral, bakteriyel veya paraziter zoonozlar nedeniyle sığırlarda hastalık tabloları şekillenmekte ve hayvanlarda verim kayıplarının yanı sıra ölüm vakalarıyla karşılaşmaktadır (Yıldırım ve ark. 2000). Sığırlarda verim kayıplarına, hatta ölümlere *Toxocara*, *Trichostrongylus*, *Trichuris* ve *Nematodirus* gibi gastrointestinal nematod etkenleri de neden olmaktadır.

Toxocariosis, *Toxocara vitulorum* adı verilen nematodun sığır, manda ve zebuların incebağırsağına yerleşerek meydana getirdiği enfeksiyondur. Enfeksiyonun ağır seyrettiği hayvanlarda bağırsak tıkanması ve delinmesi sonucu ölüm görülebilmektedir (Adanır 2013, Doğanay 2018). Enfeksiyon buzağılara kıyasla malaklarda daha ağır seyretmekte ve genellikle 1-3 aylık olanlarda önem arz etmektedir. Zira 6 aydan büyük hayvanlarda parazite karşı bir direnç gelişmekte ve bunlarda erişkin parazit pek görülmemektedir (Starke-Buzetti 2006, Adanır 2013, Doğanay 2018). *Toxocara vitulorum*'un erkekleri 20-25 cm, dişileri ise 25-30 cm uzunluğa sahiptir. Erişkinlerin ön ucunda üç dudak vardır. Saydam bir yapıda olduğundan içi organlar görünür vaziyettedir. Parazitin yumurtaları kalın kabuklu ve pürüzlü olup, 75-95 x 60-74 µm boyutlarındadır (Soulsby 1986, Adanır 2013, Doğanay 2018). Dış ortamda yumurta içerisinde 3 hafta kadar bir sürede gelişen enfektif larva (L3) sonkonaklar tarafından ağız yoluyla alındığında bağırsaklarda serbest kalır. Larvaların büyük bir kısmı portal yolla karaciğere gelir. Erkeklerde ve gebe olmayan dişilerde somatik olarak bekleyen bu larvalar ölür. Zira 6 aydan büyük erkeklerde ve gebe olmayanlarda bu parazite karşı direnç gelişmektedir. Gebe hayvanlarda dokulardaki inhibe larvaların bir kısmı gebeliğin son dönemlerinde intrauterin yolla yavruya geçmektedir. Geri kalanlar meme dokusuna göç ederek doğumdan sonraki 2-3. günden itibaren yavruya süt veya kolostrum ile yani galaktojen yolla bulaşmaktadır. Doğumdan sonraki bir ay boyunca süt ile larva atılımı devam etmektedir. Bu larvalar 3-4 hafta sonra erişkin döneme ulaşmaktadır. Dokularında L3 olan dişiler enfeksiyonu galaktojen yolla en fazla 2 gebelik dönemi boyunca yavruya aktarabilirler (Soulsby 1986, Toparlak ve Tüzer 2005, Umur ve ark. 2011, Adanır 2013, Doğanay 2018). Larvalar akciğerde yerleştiğinde yangı, fokal nekroz, eozinofili ve sıvı birikimi nedeniyle buzağılarda öksürük, burun akıntısı, dışkıda yumurta görülebilir. Larvalar karaciğere yerleşirse 0,5-1 cm büyüklüğünde gri-beyaz renkte süt odakları, bağırsakta ise yangı, ülserleşme, nekroz ve zayıflama görülür. İştahsızlık, zayıflama, dehidrasyon, karında şişkinlik, sarılık, pnömoni, öksürük gibi klinik belirtilere 6-8 aylık olanlarda rastlamak mümkündür. Hastalığın patognomik belirtisi hayvanların nefesinin bütirik asit (sarımsak gibi) kokmasıdır. Parazit sayısının fazla olması durumunda bağırsak tıkanması, yırtılması ve peritonitis sonucu ölüm vakalarıyla karşılaşılabilir. Sığırlarda somatik larvaların tanısı pratik olmamakla birlikte, flotasyon yöntemiyle dışkıda yumurta görülebilmektedir. Türkiye'de ve Dünya'nın çeşitli ülkelerinde yapılan çalışmalarda toxocariosis prevalansının %0,3-82 (Tigin ve ark 1993, Ankers ve ark 1997, Aydın ve ark. 2006, Göz ve ark. 2006, Sackey ve ark. 2007, Arslan ve ark. 2008, Davila ve ark. 2010, Avcıoğlu ve Balkaya 2011, Doğanay 2018) arasında değiştiği belirlenmiştir.

Trichostrongylosis, *Trichostrongylus axei*, *T. colubriformis*, *T. vitrinus*, *T. skrjabini*, *T. longispicularus*, *T. probolurus*, *T. capricola*, *T. rugatus* ve *T. falculatus* türü nematodların ruminantlarda meydana getirdiği enfeksiyondur. *Trichostrongylus axei* abomazuma, diğer türler ince bağırsaklara yerleşmektedir. Erişkin parazitlerin büyüklüğü 7-8 mm civarındadır. Sonkonağın dışkısıyla dışarı atılan yumurtaların içerisinde 1 günde gelişen L1'ler yumurtayı terk eder. Yaklaşık 1 hafta içerisinde iki kez gömlek değiştirerek enfektif L3 haline gelir. Ruminantlar otlarla birlikte L3'leri alarak enfeksiyona yakalanır. L3'ler abomazum bezlerinde veya bağırsak villuslarında 15 gün içerisinde 2 kez gömlek değiştirerek erişkin döneme ulaşırlar. Kuraklığa çok dayanıklı olmayan larvaların sayısı sonbaharda artar ve bu dönemde hayvanlarda klinik trichostrongylosis vakaları görülür. Larvalar abomazum bezlerinde dilatasyon, yangı, epitel tabakada nekroz ve ülser neden olur. Mukozaya gömülen çok sayıda parazit gri plak benzeri lezyonlar meydana getirir. Bunlara ek olarak lamina propriyada kalınlaşma, kapillar arter ve venalarda permeabilite artışı, hipotalbüminemi, plazma proteinlerinde düşüş görülür. Hayvanlarda klinik olarak iştahsızlık, zayıflama, deride kuruluk, yapağı veriminde azalma,

ödem ve yeşil renkli ishal, akut enfeksiyonlarda ölüm görülür. Dışkı muayenesinde yumurtalardan tür düzeyinde tanı mümkün olmadığından larva kültürü yapılmalıdır (Soulsby 1986, Toparlak ve Tüzer 2005, Muz 2013, Doğanay 2018). Türkiye’de ve Dünya’nın çeşitli ülkelerinde yapılan çalışmalarda trichostrongylosis prevalansının %1-60 (Gökçen ve Güçlü 2002, Rehbein ve ark. 2003, Iqbal ve ark. 2007, Şenlik ve ark. 2010, Muz 2013, Doğanay 2018, Hosseinnezhad ve ark. 2021) arasında değiştiği belirlenmiştir.

Nematodirozis, *Nematodirus spathiger*, *N. filicollis*, *N. battus*, *N. helveticus*, *N. abnormalis* türü nematodların ruminantlarda ince bağırsaklara yerleşerek meydana getirdiği bir enfeksiyondur. Erişkin erkek parazitlerin büyüklüğü 11-17 mm, dişileri ise 14-29 mm uzunluktadır. Parazitin yumurtaları diğer nematodlara kıyasla oldukça büyük ve 4-8 blastomerli olup, 90-110 x 160-245 µm boyutlarındadır. Preparazitik gelişim diğer Trichostrongyloid nematodlarla genel olarak benzer olup, sadece *Nematodirus* türlerinde yumurtadan 3. dönem larvanın çıkmasıyla ayrılmaktadır. Bu özellik bu cins nematodlara kuraklık ve don gibi olumsuz hava koşullarından daha az etkilenme şansı kazandırmıştır. *Nematodirus* türleri bir yıldan fazla bir süre merada canlılığını koruyabilmektedir. Yağışlar larvaların yumurtadan çıkmasını hızlandırmakta, bir yaşımdan büyük hayvanlarda bu parazitlere karşı bağışıklık şekillenmektedir. Parazitler bağırsak villuslarında hasara ve mukozada erozyonlara neden olurlar. Hayvanlarda klinik olarak ishale bağlı sıvı kaybı, gençlerde ölüm görülebilir. Nekropside erişkinler, dışkı muayenesinde tipik yumurtalar görülebilir (Soulsby 1986, Toparlak ve Tüzer 2005, Doğanay 2018). Türkiye’de ve Dünya’nın çeşitli ülkelerinde yapılan çalışmalarda nematodirozis prevalansının %1-19,6 (Umur 1996, Waruiru 1998, Yıldırım ve ark. 2000, Gökçen ve Güçlü 2002, Rehbein ve ark. 2003, Kırçalı Sevimli ve ark. 2007, Muz 2013, Doğanay 2018) arasında değiştiği belirlenmiştir.

Trichurosis, *Trichuris globulosa*, *T. discolor*, *T. ovis*, *T. skrjabini* türü nematodların ruminantlarda kalın bağırsaklara yerleşerek meydana getirdiği bir enfeksiyondur. Erişkin parazitlerin ön 2/3’lük kısmı ince, geri kalan arka kısmı ise kalın bir görünüme sahiptir. Bu nedenle kamçılı kurt olarak isimlendirilmektedir. Parazitin erişkin erkekleri 3,9-8 cm, dişileri ise 3,5-7 cm boyutlarındadır. Sığırların dışkısıyla dışarı atılan yumurtaların içerisinde larvalar gelişir. Bu yumurtalar başka konaklar tarafından ağız yoluyla alındığında ince bağırsaklarda yumurtaların tıkaçları açılır ve enfektif larvalar önce sekum mukozasında gömlek değiştirmekte sonra da kalın bağırsaklara geçerek erişkin forma ulaşmaktadır. Erişkinler ince ve uzun olan ön kısımlarını kolon mukozasına gömerler. Duyarlı olan hayvanlarda kolonda 500’den fazla erişkin parazite rastlanabilmekte ve bu hayvanlarda tifilokolitis şekillenmektedir. Klinik belirtiler çok belirgin olmamakla birlikte, gençlerde kanlı-mukuslu ishal, hipalbuminemi, anoreksi görülebilir. Yoğun enfeksiyonlarda subakut kataral yangı şekillenebilir. Flotasyon yöntemi ile incelenen dışkıda görülebilen yumurtalar kahve renkli ve her iki ucu tıkaçla kapalı limon benzeri görünümde olup, 70-80 x 26-42 µm boyutlarındadır. Nekropside kalın bağırsak mukozasına gömülü erişkinler tespit edilebilir (Soulsby 1986, Toparlak ve Tüzer 2005, Muz 2013, Doğanay 2018). Türkiye’de ve Dünya’nın çeşitli ülkelerinde yapılan çalışmalarda Trichurosis prevalansının %1-73,3 (Umur 1996, Rehbein ve ark. 2003, Kırçalı 2004, Santos ve ark. 2010, Aypak ve ark. 2013, Ütük ve ark. 2011, Muz 2013, Doğanay 2018) arasında değiştiği belirlenmiştir.

Ağrı, coğrafi olarak Türkiye’nin en doğusunda yer alan ve en önemli geçim kaynağı hayvancılık olan illerimizden birisidir. Ancak sığır sayısının oldukça yüksek olduğu bu ilimizde sığırlardan beklenen ölçüde verim alınmadığı görülmektedir. Bu beklenen verimin alınmamasının nedenlerinden birinin sığırlarda görülen parazit kaynaklı hastalıklar olduğu düşünülmektedir. Dünya’da ve Türkiye’de sığırların sindirim sistemine yerleşen çok sayıda önemli intestinal nematodlar bulunmakta ve bu türlerin yaygınlığı ile ilgili birçok çalışmaya rastlanmaktadır (Soulsby 1986, Umur ve Gıcık 1995, Toparlak ve Tüzer 2005, Kırçalı Sevimli ve ark. 2007, Muz 2013, Taşçı ve ark. 2016, Paul ve ark. 2016, Doğanay 2018). Ancak, Ağrı yöresinde sığırlarda intestinal nematodlarla ilgili herhangi bir veriye rastlanmamıştır. Bu çalışma Ağrı yöresindeki sığırlarda gastro-intestinal nematodların yaygınlığını belirlemek amacıyla yapılmıştır.

## MATERYAL VE METOT

Bu çalışma için gerekli olan izinler Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu’ndan (26.01.2023 tarih ve KAÜ-HADYEK/2023-001 sayılı yazı) alınmıştır.

Çalışmada Ağrı merkez ve merkeze bağlı toplam 6 odakta (il merkezi, Yazıcı, Aslangazi, Çamurlu, Kalender ve Yakınca köyleri) meraya çıkmış sığırlar arasından 188 tanesi rastgele seçilmiş ve bunlardan dışkı örneği alınmıştır. Sığırların rektumundan alınan yaklaşık 50 gram dışkı örnekleri ayrı ayrı poşetlere konulmuş, üzerine kayıt için gerekli bilgiler yazılmış ve laboratuvara getirilerek inceleninceye kadar 4 °C’de bekletilmiştir. Dışkı örneklerinde gastrointestinal nematodlara ait yumurtaların tespit edilebilmesi amacıyla çinko sülfat flotasyon yöntemi uygulanmıştır. Dışkı örnekleri öncelikle bir miktar su ile sulandırıldıktan sonra süzölmüş ve 3000 devirde 5 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Daha sonra üst kısım atılmış ve sediment vortekslendikten sonra üzerine doymuş çinko sülfat eklenerek 3000 devirde 5 dakika süreyle santrifüj edilmiş ve üst kısımdan hazırlanan preparatlar sindirim sistemine yerleşen nematodlar yönünden incelenmiştir (Taşçı ve ark. 2016).

## BULGULAR

Çinko sülfat santrifüj flotasyon yöntemi ile yapılan dışkı muayenesinde sığırların 145’inde (145/188, %77) *Trichostrongyloid* tip yumurta, 31’inde (31/188, %16) *Toxocara vitulorum*, 17’inde (17/188, %9) *Trichuris* spp. ve 9’unda (9/188,%5) *Nematodirus* spp. yumurtası görülmüştür. Montofon ırkı 104 sığırın 80’inde (80/104, %77) *Trichostrongyloid* tip yumurta, 19’unda (19/104, %18.2) *Toxocara vitulorum*, 11’inde (11/104, %10.5) *Trichuris* spp. ve 5’inde (5/104, %4.8) *Nematodirus* spp. yumurtası, Simental ırkı 66 sığırın 52’inde (52/66, %78.8) *Trichostrongyloid* tip yumurta, 11’inde (11/66, %16.6) *Toxocara vitulorum*, 6’sında (6/66, %9) *Trichuris* spp. ve 4’ünde (4/66, %6) *Nematodirus* spp. yumurtası, Yerlikara ırkı 18 sığırın ise 13’ünde (13/18, %72.2) *Trichostrongyloid* tip yumurta, 1’inde (1/18, %5.5) *Toxocara vitulorum* yumurtasına rastlanmıştır (Tablo 1). Yapılan incelemelerde *Trichostrongyloid* tip yumurtaya 1 yaşındaki 37 (%82.2), 2 yaşındaki 19 (%65.5), 3 yaşındaki 42 (%77.7) ve 4 yaş ve üzerindeki 47 (%78.3) sığırdan rastlanırken, 1 yaşındakilerin 7’sinde (%15.5) *Toxocara vitulorum*, 4’ünde (%8.8) *Trichuris* spp. yumurtası, 2 yaşındakilerin 5’inde (%17.2) *Toxocara vitulorum*, 3’ünde (%10.3) *Trichuris* spp. ve 3’ünde (%10.3) *Nematodirus* spp. yumurtası, 3 yaşındakilerin 7’sinde (7/54, %12.9) *Toxocara vitulorum*, 4’ünde (4/54, %7.4) *Trichuris* spp. ve 3’ünde (3/54, %5.5) *Nematodirus* spp. yumurtası ve 4 yaş ve üzerindeki 12’sinde (12/60, %20) *Toxocara vitulorum*, 6’sında (6/60, %10) *Trichuris* spp. ve 3’ünde (3/60, %5) *Nematodirus* spp. yumurtası görülmüştür (Tablo 2). Dişi sığırların 72’sinin (72/90, %80) *Trichostrongyloid* nematodlarla, 20’sinin (20/90, %22.2) *Toxocara vitulorum* türü ile, 6’sının (6/90, %6.6) *Trichuris* spp. ve 1’inin (1/90, %1.1) *Nematodirus* spp. türleriyle ve erkek sığırların 73’ünün (%74.5) *Trichostrongyloid* nematodlarla, 11’inin (%11.2) *Toxocara vitulorum* ile, 11’inin (%11.2) *Trichuris* spp. ve 8’inin (%8.1) *Nematodirus* spp. türleri ile enfekte olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3).

Tablo 1. Irka göre *Trichostrongylus* spp., *Toxocara vitulorum*, *Trichuris* spp. ve *Nematodirus* spp. yumurtalarının görülme oranı

İrk	<i>Trichostrongylus</i> spp.	<i>Toxocara vitulorum</i>	<i>Trichuris</i> spp.	<i>Nematodirus</i> spp.
Montofon	80 (%77)	19 (%18,2)	11 (%10,5)	5 (%4,8)
Simental	52 (%78,8)	11 (%16,6)	6 (%9)	4 (%6)
Yerlikara	13 (%72,2)	1 (%5,5)	-	-
Toplam	145 (%77)	31 (%16)	17 (%9)	9 (%5)

Tablo 2. Yaşa göre *Trichostrongylus* spp., *Toxocara vitulorum*, *Trichuris* spp. ve *Nematodirus* spp. yumurtalarının görülme oranı

Yaş	<i>Trichostrongylus</i> spp.	<i>Toxocara vitulorum</i>	<i>Trichuris</i> spp.	<i>Nematodirus</i> spp.
1	37 (%82,2)	7 (%15,5)	4 (%8,8)	-
2	19 (%65,5)	5 (%17,2)	3 (%10,3)	3 (%10,3)
3	42 (%77,7)	7 (%12,9)	4 (%7,4)	3 (%5,5)
≥4	47 (%78,3)	12 (%20)	6 (%10)	3 (%5)

Tablo 3. Cinsiyete göre *Trichostrongylus* spp., *Toxocara vitulorum*, *Trichuris* spp. ve *Nematodirus* spp. yumurtalarının görülme oranı

Cinsiyet	<i>Trichostrongylus</i> spp.	<i>Toxocara vitulorum</i>	<i>Trichuris</i> spp.	<i>Nematodirus</i> spp.
Erkek	73 (%74,5)	11 (%11,2)	11 (%11,2)	8 (%8,1)
Dişi	72 (%80)	20 (%22,2)	6 (%6,6)	1 (%1,1)

**SONUÇ**

Türkiye'nin Doğu Anadolu Bölgesinde bulunan Ağrı, temel geçim kaynağı tarım ve hayvancılık olan, sahip olduğu coğrafi yapısı nedeniyle geniş mera ve yaylaların varlığıyla çok sayıda büyükbaş ve küçükbaş hayvanın yetiştirildiği bir konumda bulunmaktadır. Yöredeki hayvan yetiştiriciliği geleneksel yöntemlerle yapıldığından, hayvanlar başta paraziter hastalıklar olmak üzere diğer enfeksiyöz etkenlerle sıklıkla karşılaşmaktadır. Yapılan çalışmalarda hayvanların enfeksiyöz etkenlere karşı korunabilmesi açısından gerekli önlemlerin yeterince alınmadığı görülmektedir. Parazit kaynaklı enfeksiyonların hayvan yetiştiriciliğinde önemli ekonomik kayıplara neden olduğu bilinmektedir. Türkiye'nin en soğuk illerinden biri olan Ağrı'da sığırlarda sindirim sistemine yerleşen parazitlerin varlığı veya yayılışı ile ilgili herhangi bir veri bulunmamaktadır. Yörede yapılan bu çalışmada çinko sülfat flotasyon yöntemi kullanılarak sığırlarda sindirim sistemine yerleşen parazitlerin varlığı araştırılmış ve bu hayvanların birçok parazit türüyle enfekte olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmanın verileri doğrultusunda, bölge hayvanlarında saptanan parazitlere yönelik koruma ve kontrol planlanmasının ilgili kurum ve kuruluşlarca yapılması gerektiği kanısına varılmıştır. Ayrıca yöredeki sığırlarda görülen paraziter hastalıklar konusunda daha geniş kapsamlı araştırmaların yapılması ve hayvan yetiştiricilerinin paraziter hastalıklar konusunda bilinçlendirilmesi gerekmektedir.

**KAYNAKÇA**

- 1- Adanır R. Sığırlarda Toxocariasis. İçinde: Özcel MA (Ed):Veteriner Hekimliğinde Parazit Hastalıkları. S:233-238, Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, 1.cilt, İzmir, 2013.
- 2- Ankers P, Fofana S, Biaye A. Les dominantes du parasitisme helminthique chez les bovins, Ovins et caprins en Guinee maritime, Republique de Guinee. Revue Elev Med Vet Pays Trop, 50(2): 111-116, 1997.
- 3- Arslan MÖ, Sarı B, Taşçı GT, Aktaş MS. Erzurum yöresinde buzağularda *Toxocara vitulorum* yaygınlığı. Kafkas Üniv Vet Fak Derg, 14: 37-40, 2008.
- 4- Avcıoğlu H, Balkaya İ. Prevalence of *Toxocara vitulorum* in calves in Erzurum, Turkey. Kafkas Üniv Vet Fak Derg, 17: 345-7, 2011
- 5- Aydın A, Göz Y, Yüksek N, Ayaz E. Prevalence of *Toxocara vitulorum* in Hakkari Eastern Region of Turkey. Bull Vet Inst Pulawy, 50, 51-4, 2006.
- 6- Aypak S, Eren H, Bakırcı S, Uner S, Simsek E, Boga B, Guler AG, Unlu AH. Parasites detected by examination of fecal samples in wresting camels. Kafkas Univ Vet Fak Derg, 19(3):371-374, 2013.
- 7- Davila G, Irsik M, Greiner EC. *Toxocara vitulorum* in beef calves in North Central Florida. Vet Parasitol, 168(3-4): 261-263, 2010.
- 8- Doğanay A, Öge H, Öge S, Yıldız K, Vural G. Helmintoloji. Nobel Tıp Kitapevi, 2018, Ankara.
- 9- Gökçen A, Güçlü F. Konya yöresinde sığırlarda mide-bağırsak nematodlarının yayılışı. T Parazit Derg, 26, 426-432, 2002.
- 10- Göz Y, Altuğ N, Yüksek N, Özkan C. Parasites detected in neonatal and young calves with diarrhoe. Bull Vet Inst Pulawy, 50, 345-348, 2006.
- 11- Hosseinezhad H, Sharifdini M, Ashraf K, Roushan ZA, Mirjalali H, Rahmati B. Trichostrongyloid nematodes in ruminants of northern Iran: prevalence and molecular analysis. BMC Vet Res, 17, 371, 2021.

- 12- Iqbal MU, Sajid MS, Hussain A, Khan MK. Prevalence of helminth infections in dairy animals of Nestle milk collectin areas of Punjab (Pakistan). VIII. World Buffalo congress. Ital J Anim Sci, 6, 935-938, 2007.
- 13- Kırçalı F. Kazan Mezbahasında kesilen hayvanların kalın bağırsaklarında saptanan helmint türleri. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 51, 41-45, 2004.
- 14- Kırçalı Sevimli F, Kozan E, Köse M, Eser M, Çiçek H. Afyonkarahisar il merkezinde yetiştirilen sığırların mide-bağırsak nematodları ve mevsimsel dağılımları. T Parazit Derg, 31(1): 51-56, 2007.
- 15- Muz MN. Sığırlarda Trichostrongylosis. İçinde: Özcel MA (Ed):Veteriner Hekimliğinde Parazit Hastalıkları. S:244-146, Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, 1.cilt, İzmir, 2013.
- 16- Muz MN. Sığırlarda Nematodirus Enfeksiyonu. İçinde: Özcel MA (Ed):Veteriner Hekimliğinde Parazit Hastalıkları. S:253-254, Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, 1.cilt, İzmir, 2013.
- 17- Muz MN. Sığırlarda Trichuriasis. İçinde: Özcel MA (Ed):Veteriner Hekimliğinde Parazit Hastalıkları. S:257-258, Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, 1.cilt, İzmir, 2013.
- 18- Paul A, Baishnab PC, Kobir H, Akhter S, Chowdhury TJ, Jha B, Rahman MM. Status of internal parasitism of cattle at sylhet Government Dairy Farm, Bangladesh. International Journal of Natural Sciences, 6(2):54-34, 2016.
- 19- Rehbein S, Visser M, Winter R. Helminth parasitism in cattle from Schleswig-Holstein (Germany) after their first grazing season. Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift. 116, 41-44, 2003.
- 20- Sackey AKB, Ojongmboh TA, Neils JS, Sale U. The possible sources of *Toxocara (Neoscaris) vitulorum* infection in neonatal zebu calves in Norhern Neigeria. J Anim and Vet Adv, 6(11): 1314-1316, 2007.
- 21- Santos TR, Lopes WDZ, Buzulini C, Borges FDA, Sakamoto CAM, Lima RCA, Costa AJ. Helminth fauna of bovines from the Central-Western region, Minas Gerais State, Brazil. Cienc Rural, 40, 934-938, 2010.
- 22- Senlik B, Cirak VY, Akyol V, Tinar R. Trichostrongylosis in cattle from South Marmara region of Turkey. Assessment of various factors related to faecal egg counts. Kafkas Univ Vet Fak Derg, 16(4): 663-667, 2010.
- 23- Soulsby E.J.L. Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals. Seventh Edition. Bailliere Tindall, London, 1986.
- 24- Starke-Buzetti WA. *Toxocara vitulorum* in livestock. In: *Toxocara: The Enigmatic Parasite*, Holland CV, Smith HV (Eds). CABI Pub, Cambridge, 2006.
- 25- Taşçı GT, İtik İkinci A, Arslan MÖ. Periparturient dönemdeki ineklerde Trichostrongyloid nematod yumurta atılımı üzerine araştırmalar. T Parazit Derg, 40:185-189, 2016.
- 26- Tiğın Y, Burgu A, Doğanay A, Öge H, Öge S. İç Anadolu Bölgesi'nde sığır mide-bağırsak nematodları ve mevsimsel aktiviteleri. Turk J Vet Anim Sci, 17, 341-349, 1993.
- 27- Toparlak M, Tüzer E. Veteriner Helmintoloji. İstanbul Üniv Vet Fak Ders Notu, No:28, İstanbul, 2005.
- 28- Umur Ş, Gıcık Y. Kars yöresi sığırlarında *Toxocara vitulorum* 'un yayılışı. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 42, 25-29, 1995.
- 29- Umur Ş. Kars yöresi sığırlarında mide-bağırsak nematodları ve mevsimsel dağılımları. Turk J Vet Anim Sci, 20, 307-313, 1996.
- 30- Umur Ş, Köroğlu E, Güçlü F, Tinar R. Nematoda. In: Veteriner Helmintoloji. Tinar R (Ed). Dora Basım Yayın Ltd Şti, Bursa, 2011.
- 31- Ütük AE, Kırbaş A, Babür C, Balkaya İ. Türkiye'nin Nevşehir ilindeki develerde Toxoplasma gondii antikorları ve bazı helmintik parazitlerin belirlenmesi. 17. Ulusal Parazitoloji Kongresi. Kongre Özet Kitabı, s: 213, Kars, 2011.



32- Waruiru RM, Nansen P, Kyvsgaard NC, Thamsborg SM, Munyua WK, Gathuma JM, Bogh HO. An abattoir survey of gastrointestinal nematode infections in cattle in the central highlands of Kenya. *Vet Res Comm*, 22, 325-334, 1998.

33- Yıldırım A, Kozan E, Kara M, Öge H. Kayseri Bölgesinde kapalı sistemde yetiştirilen sığırlarda helmint enfeksiyonlarının durumu. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 47, 333-337, 2000.

**KARS GRAVYER PEYNİRİNİN BAZI KALİTE ÖZELLİKLERİ**  
**SOME QUALITY PARAMETERS OF KARS GRUYERE CHEESE**

**Tuğba KILIÇ<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Kilis 7 Aralık Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Kilis, Türkiye.*

<sup>1</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2573-6220>*

**Gülcan KOYUNCU<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>*Kilis 7 Aralık Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Kilis, Türkiye.*

<sup>2</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7406-5331>*

**ÖZET**

Süt ürünleri içerisinde en fazla çeşitliliğe sahip olan peynir, dünya genelinde yaygın olarak üretilen ve oldukça besleyici bir üründür. Türkiye’de ise yerli peynir çeşitlerinin yanında yabancı çeşitlerinde üretimi son yıllarda giderek artmaktadır. Ülkemizde üretimi yapılan bu yabancı çeşitlerin arasında en bilinenlerden biri ise anavatanı İsviçre olan Gravyer peyniridir. Gravyer peyniri gözenekli, yüksek yağ içeriği nedeniyle sarı renkli, aroması kuvvetli ve sert peynirler grubundadır. Bu çalışmada Kars ve çevre illeri için ekonomik önemi büyük olan Kars Gravyerinin karakteristik kalite özelliklerinden bazıları belirlenmiş ve ilgili standart ile karşılaştırılmıştır. Ardahan İli’nden temin edilen Kars Gravyerinin kurumadde değeri %69,22 iken yağ oranı %33,41 ve kurumaddede yağ oranı %48,27 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuç peynirde en fazla bulunan besin ögesinin yağ olduğunu göstermiştir. Peynirin pH değeri 6,26, titrasyon asitliği laktik asit cinsinden %0,94, kül içeriği %4,16, tuz miktarı %2,16 ve su aktivitesi değeri ( $a_w$ ) %0,88 olarak tespit edilmiştir. Gravyer peynirinden elde edilen yağların metil esterleri oluşturularak GC-FID’de kromatografik olarak yağ asidi kompozisyonu belirlenmiştir. Peynirde 15’i doymuş, 7’si tekli doymamış ve 6’sı çoklu doymamış olmak üzere toplam 28 çeşit yağ asidi tanımlanmıştır. Bu yağ asitleri içerisinde en büyük payı %27,74 ile palmitik asit almış ve palmitik asidi %20,00 ile oleik asit ve %11,77 ile miristik asit takip etmiştir. Gravyer peynirinde toplam %62,41 doymuş yağ asidi belirlenirken, %31,39 tekli doymamış ve %6,20 çoklu doymamış yağ asidi tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre çalışılan Kars Gravyerinin TS 2174 Gravyer peyniri standardında belirlenen nem, yağ ve tuz sınırlarına uyum gösterdiği ve yüksek besleyicilikte olduğu ortaya konulmuştur. Böylece araştırmadaki veriler Gravyer peynirinin çeşitli kalite parametreleri ile bilinirliğini arttırarak, peynir üretiminin ve tüketiminin yaygınlaşmasına katkı sağlayacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Gravyer peyniri, yağ asidi kompozisyonu, kalite.

**ABSTRACT**

Cheese, which has the most variety among dairy products, is a highly nutritious product widely produced around the world. In Turkey, the production of foreign varieties as well as domestic cheese varieties has been increasing in recent years. One of the most well-known among these foreign varieties produced in our country is Gruyere cheese, whose homeland is Switzerland. Gruyere cheese is porous, yellow in color due to its high oil content, strong aroma and is in the group of hard cheeses. In this study, some of the characteristic quality features of Kars Gruyere, which is of great economic importance for Kars and its surrounding provinces, were determined and compared with the relevant standard. While the dry matter value of Kars Gruyere supplied from Ardahan Province was 69.22%, the oil rate was 33.41% and the oil rate in dry matter was 48.27%. This result showed that the most abundant nutrient in cheese was fat. The pH value of the cheese was 6.26, the titration acidity was 0.94% in terms of lactic acid, the ash content was 4.16%, the salt content was 2.16%, and the water activity value was 0.88%. Fatty acid composition was determined chromatographically in GC-FID by

forming methyl esters of oils obtained from Gruyere cheese. A total of 28 types of fatty acids have been identified in cheese, of which 15 are saturated, 7 are monounsaturated, and 6 are polyunsaturated. Among these fatty acids, palmitic acid had the largest share with 27.74% and palmitic acid was followed by oleic acid with 20.00% and myristic acid with 11.77%. While a total of 62.41% saturated fatty acids were determined in Gruyere cheese, 31.39% monounsaturated and 6.20% polyunsaturated fatty acids were determined. According to the results obtained, it has been revealed that the studied Kars Gruyere complies with the moisture, fat and salt limits determined in the TS 2174 Gruyere cheese standard and has high nutritive value. Thus, the data in the research will contribute to the spread of cheese production and consumption by increasing the awareness of Gruyere cheese with various quality parameters.

**Keywords:** Gruyere cheese, fatty acid composition, quality.

## 1. GİRİŞ

Dünya genelinde beğenilerek tüketilen önemli bir süt ürünü olan peynir, ülkemizde de yaygın olarak üretilmekte ve tüketilmektedir. Peynir, besleyici özelliği, kolay sindirilebilmesi ve arzu edilen duyuşal özellikleri ile önemli bir gıdadır (Üçüncü, 2004). Türkiye’de elde edilen çiğ sütün yaklaşık %40’ı peynir üretimi için kullanılmaktadır (Topuk, 2014).

Dünyada 4000’den fazla çeşidi olan peynirin ülkemizde ise; beyaz, kaşar, tulum, mihaliç, çeçil ve dil gibi yerli çeşitlerin yanı sıra Gravyer ve Emmental gibi yabancı çeşitlerin üretimi de yıldan yıla artış göstermektedir (Kamber ve ark., 2008; Özer, 1970). Gravyer peyniri ismini anavatanı olan İsviçre Alplerindeki Greyerz (Gruyere) kentinden almıştır. Bu peynir başta İsviçre olmak üzere Avusturya, Fransa ve Finlandiya’da yaygın olarak üretilmektedir (Üçüncü, 2004).

Gravyer peyniri TS 2174’e göre, “çiğ süt veya pastörize süt standardına uygun ekstra veya 1.sınıf inek sütlerinin, imalat tekniğine göre işlenmesi sonucu elde edilen, kendine has şekil, koku, renk, tat ve aroması olan sert kabuklu katı kıvamlı bir peynirdir” (Anonim, 2023). Gravyer peyniri; yaklaşık ağırlığı 70 kilogramı bulan, teker şeklinde, kesit yüzeyi gözenekli, açık sarı renkte, altın sarımsı-kahverengimsi bir kabukta ve kendine has bir aromaya sahip, sert bir peynir olarak da tanımlanabilmektedir (Güzeller ve Koboyeva, 2020; Kamber, 2008; Topuk ve Sezer, 2015).

1905 yılından beri geleneksel olarak üretilen Gravyer peynirinin yapımında sadece inek sütü kullanılmaktadır ve üretimde öncü iller Kars ve Ardahan’dır (Çetinkaya ve Öz, 2018; Kamber, 2005; Kamber, 2008). Dünya ekonomisi açısından önemli 18 peynir çeşidinden biri olan Gravyer peynirinin ülkemizde yılda 600 ton civarında üretildiği tahmin edilmektedir (Çetinkaya ve Öz, 2018). Gravyer peyniri üretiminde, sıcaklığı yaklaşık 35°C’ye getirilen inek sütüne şirden mayası ilavesi ile 45 dk fermentasyon sonunda pıhtı oluşturulur. Elde edilen pıhtının kırılıp, ısı işleminden (57°C’de 45 dk) geçirilip teker şekli verildikten sonra 24 saat baskıya alınmasıyla Gravyer peyniri elde edilir. Tekerlerin alt ve üst yüzeyleri kuru ve salamura tuzlama yapılır ve yaklaşık 6 ay boyunca olgunlaştırılır (Güzeller ve Koboyeva, 2020).

Peynirdeki yağların sindirilebilirlik oranı (%88-94) oldukça yüksektir. Peynirler insan beslenmesinde önemi olan birçok yağ asidini içerir. Bu yağ asitleri genellikle doymuş yağ asitlerinden meydana gelse de süt yağlarının tüketimi ile kardiyovasküler hastalıklar arasında bir bağlantı olduğunu bildiren bir çalışma bulunmamaktadır (Çetinkaya ve Öz, 2018). Araştırma kapsamında, bölge ekonomisi için önemli bir ürün olan Gravyer peynirinin bazı kimyasal kalite özellikleri ve peynirin en büyük bileşeni olan yağın ise yağ asidi kompozisyonu belirlenerek, literatüre kazandırılması amaçlanmaktadır. Böylece Gravyer peynirinin ülkemizde bilinirliğinin artırılması ve kalite parametrelerinin ortaya konulması hedeflenmektedir.

## 2. MATERYAL VE METOT

### 2.1. Materyal

Bu araştırmada materyal olarak Ardahan İli’ndeki yerel bir süt işletmesinde üretilen Gravyer peyniri kullanılmıştır.

## 2.2. Metot

Temin edilen peynir analizler yapılmaya kadar +4°C buzdolabı sıcaklığında depolanmıştır. Analizler 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilerek, sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir.

### 2.1. pH Değeri

Örneklerin pH değerlerini belirlemek için 10 g rendelenmiş peynir ile 100 ml saf su karıştırılarak homojenizatör yardımı ile homojenize edilmiştir. Hazırlanan karışımın pH'sı, cam elektrotlu dijital pH-metre (Mettler Toledo, Greifensee, İsviçre) kullanılarak belirlenmiştir (Cemeroğlu, 2013).

### 2.2. Titrasyon Asitliği

Peynir örnekleri parçalayıcıda ezme haline getirilmiş, belirli oranda seyreltilip, süzildikten sonra elde edilen süzüntü N/10'luk NaOH ile pH derecesi 8.1'e kadar titre edilmiştir. Analiz sonuçları laktik asit cinsinden % olarak verilmiştir (Cemeroğlu, 2013).

### 2.3. Toplam Kurumadde Oranı

Peynirler homojen hale getirilerek, 5-10 g tartılmış ve sabit ağırlığa gelene kadar 105±2°C'de kurutulmuştur. Örneklerin kurumadde miktarı gravimetrik (%w/w) olarak belirlenmiştir (Cemeroğlu, 2013).

### 2.4. Kül Tayini

Homojen peynirlerden 3-5 g kadarkrozelere tartılmış ve kül fırınına yerleştirilmiştir. Fırın sıcaklığı kademeli olarak 550 °C'ye kadar artırılmış ve beyaz kül elde edilinceye kadar yakma işlemi yapılmıştır. Örneklerin kül miktarı gravimetrik (%w/w) olarak yüzde cinsinden belirlenmiştir (Cemeroğlu, 2013).

### 2.5. Su Aktivitesi Tayini

Homojen peynir örneklerinden yaklaşık 2 g su aktivitesi cihazının kaplarına konulmuş ve cihaz (Novasina AG LabTouch-aw, CH-8853 Lachen, Switzerland) yardımıyla  $a_w$  değerleri belirlenmiştir (Konar, 2013).

### 2.6. Tuz Tayini

Peyrinlerin tuz içeriği Mohr yöntemi ile belirlenmiştir. Tuz miktarı için, asitlik tayininde hazırlanan süzüntüden alınmış ve potasyum kromat indikatörü eşliğinde N/10'luk AgNO<sub>3</sub> çözeltisi ile titre edilmiştir ve yüzde olarak verilmiştir (Cemeroğlu, 2013).

### 2.7. Yağ Tayini

Peynirlerin yağ miktarı Soxhlet ekstraksiyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Kurutulmuş örnekler dietil eter kullanılarak sekiz saat ekstraksiyona tabi tutulmuş ve yağ miktarları yüzde olarak tayin edilmiştir (Cemeroğlu, 2013).

### 2.8. Yağ Asidi Kompozisyonunun Belirlenmesi

Yağ tayini sonrası peynirlerden elde edilen yağ önce esterleştirilmiş, daha sonra GC-MS ile analiz edilmiştir. Yağ asidi metil esterlerinin elde edilmesi için bir tüpe 20-60 mg yağ örneği tartılmış, üzerine 2 ml hekzan ilave edilmiştir. Daha sonra 2 M metanollü potasyum hidroksit çözeltisinden 0,2 ml eklendikten sonra tüp içeriği 2 dk vortekste karıştırılmıştır. Faz ayrımı gerçekleştirildikten sonra üst faz alınmış ve bir vialde aktarılmıştır. Yağ asidi metil esterleri cihaza 1 µl hacminde enjekte edilerek yağ asidi bileşimlerini gösteren kromatogramlar elde edilmiştir. Peynir örneklerinden elde edilen pikler ile standart karışımdaki yağ asidi metil esterleri piklerinin alıkonma zamanları karşılaştırılarak örneklerin yağ asidi kompozisyonu % olarak belirlenmiştir (Ichihara ve ark, 1996). Kromatografik şartlar aşağıda verildiği gibidir.

GC-MS: Shimadzu-QP2020

Dedektör: Alev iyonizasyon dedektörü (FID)

Kolon: DB-23 kolonu (60 m x 1.25 mm x 0.20 µm)

Taşıyıcı gaz: Helyum

Split oranı: 1:100

Dedektör Sıcaklığı: 250°C

Enjeksiyon bloku: 250°C

Sıcaklık programı: 120°C'de 1 dk, 175°C'ye kadar 10°C/dk'lık artış, 175°C'de 10 dk, 210°C'ye kadar 5°C/ dk'lık artış, 210°C'de 5 dk, 230°C'ye kadar 5°C/dk'lık artış, 230°C'de 17 dk

### 3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Gravyer peynirinin kalitesine etki eden bazı kimyasal özellikleri Tablo 1'de verilmiştir. Gravyer peyniri kurumadde içeriği ile (%69,22) yüksek besleyici özellikli bir peynirdir. Diğer araştırmacılar da çalışmaya benzer olarak Gravyer peynirinin kurumadde oranını %62,15-80,20 aralığında belirlemiştirler (Çavuş ve Beykaya, 2022; Kamber ve ark., 2008; Karagözlü ve ark., 2016; Kurt ve Öztekin, 2010; Topuk ve Sezer, 2015; Ulutaş ve ark., 1993; Üravelli, 2022). Gravyer peynirlerinde, TS 2174'e göre nem oranı en çok %40 olarak verilmiştir. Çalışma konusu olan peynir %30,78 nem ile bu standarda uymaktadır. Gravyer peynirinin  $a_w$  değeri 0,88 olarak belirlenmiştir. Fermente bir ürün olan Gravyerin  $a_w$  değerinin mayaların ve küflerin gelişimi için uygun bir ortam olduğu tespit edilmiştir. Gravyer peynirinin kül içeriği %4,16 olarak tespit edilmiştir. Yapılan diğer çalışmalarda ise bu peynirin kül içeriği %3,95-5,50 aralığında verilmiştir (Çavuş ve Beykaya, 2022; Kamber ve ark., 2008; Ulutaş ve ark., 1993). Sonuçlar arasındaki bu farklılıkların üretimde kullanılan tuz düzeylerinden, kurumadde oranlarındaki değişikliklerden ve olgunlaşma sürelerinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Gravyer peynirinin pH değeri (6,26) diğer çalışmalarla (5,37-6,82) uyumlu bulunmuştur (Çavuş ve Beykaya, 2022; Kamber, 2015; Karagözlü ve ark., 2016; Topuk ve Sezer, 2015; Üravelli, 2022; Zerfiridis ve ark., 1984). Peynir fermantasyonu süresince laktik asit bakterileri tarafından üretilen laktik asit, olgunlaşma periyodunda maya ve küfler tarafından parçalandığı bilinmektedir (Mounier ve ark., 2017). Fermente bir ürün olmasına karşın pH değerinin yüksek olması olgunlaşma sürecine bağlanmaktadır. Kars Gravyer peynirinin titrasyon asitliği laktik asit cinsinden %0,94 olarak bulunurken, bu değeri en düşük Çavuş ve Beykaya (2022) %1,02 ve en yüksek Ulutaş ve ark. (1993) %1,87 olarak bildirmişlerdir. Sonuçlardaki farklılıkların hammadde içeriği ve peynir kültüründen ileri geldiği sonucuna varılmıştır.

**Tablo 1.** Kars Gravyer peynirinin kimyasal özellikleri

Kurumadde (%)	69,22±0,18
$a_w$	0,88±0,01
Kül (%)	4,16±0,04
pH	6,26±0,00
Titrasyon asitliği (% laktik asit cinsinden)	0,94±0,05
Tuz (%)	2,16±0,03
Yağ (%)	33,41±0,16

Ortalama±standart sapma

Tuz, peynirlere hem raf ömrünü uzatmak hem de duyu özelliklerini geliştirmek amacıyla katılmaktadır. Gravyer peynirindeki tuz oranı ise TS 2174 verilen (max %7,50) değeri aşmamış ve standartlara uygun olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca diğer araştırmacılar Kars Gravyer peynirinin tuz içeriğini %1,12-3,86 arasında belirlerken (Çavuş ve Beykaya, 2022; Çetinkaya ve Öz, 2019; Karagözlü ve ark., 2016; Kurt ve Öztekin, 2010; Ulutaş ve ark., 1993; Zerfiridis ve ark., 1984), Kamber ve ark. (2008), tuz içeriğini %5,90-14,60 arasında olduğunu bildirmişlerdir.

Gravyer peynirinin kurumadde içeriğinin büyük bir kısmını yağ (kurumadde de yağ %48,27) oluşturmaktadır. TS 2174'e göre kurumadde de yağ oranı en az %45 (m/m) olarak verilmiştir. Çalışmada kullanılan Kars Gravyeri ilgili standarda uyum göstermediği bulunmuştur. Diğer araştırmacılar Gravyer peynirinin yağ oranını %27,30-38,00 aralığında tespit etmişlerdir (Çavuş ve Beykaya, 2022; Çetinkaya ve Öz, 2019; Kamber ve ark., 2008; Karagözlü ve ark., 2016; Kurt ve

Öztek, 2010; Ulutaş ve ark., 1993). Değerler arasındaki farklılıkların hammadde kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

**Tablo 2.** Kars Gravyer peynirinin yağ asidi kompozisyonu (%)

Pik no	Yağ asidi	Alınma zamanı (dk)	Alan	%
1	Bütirik asit (C4:0)	10,971	1615	0,08
2	Kaproik asit (C6:0)	12,812	41561	2,04
3	Kaprilik asit (C8:0)	15,732	25035	1,23
4	Kaprik asit (C10:0)	19,712	53856	2,64
5	Undekanoik asit (C11:0)	21,652	6307	0,31
6	Laurik asit (C12:0)	24,005	68725	3,37
7	Tridekanoik asit (C13:0)	27,099	10237	0,50
8	Miristik asit (C14:0)	28,102	239738	11,77
9	Miristoleik asit (C14:1)	29,997	33188	1,63
10	Pentadekanoik asit (C15:0)	30,935	8393	0,41
11	Palmitik asit (C16:0)	31,901	565173	27,74
12	Palmitoleik asit (C16:1)	33,071	29413	1,44
13	Heptadekanoik asit (C17:0)	33,632	15125	0,74
14	cis-10-heptadekanoik asit (C17:1)	34,741	5745	0,28
15	Stearik asit (C18:0)	35,418	221570	10,88
16	Elaidik asit (C18:1n9t)	36,207	120864	5,93
17	Oleik asit (C18:1n9c)	36,45	407412	20,00
18	Linolelaidik asit (C18:2n6t)	37,652	4629	0,23
19	Linoleik asit (C18:2n6c)	37,989	31381	1,54
20	cis-11-Eikosenoik asit (C20:1)	39,648	3332	0,16
21	Linolenik asit (C18:3n6)	40,106	62539	3,07
22	Hekzanoik asit (C21:0)	40,483	10017	0,49
23	Behenik asit (C22:0)	41,883	2184	0,11
24	Araşidonik asit (C20:4n6)	43,671	18779	0,92
25	Lignoserik asit (C24:0)	45,701	1949	0,10
26	cis-5,8,11,14,17-Eikozapentaenoik asit (C20:5n3) EPA	46,006	2737	0,13
27	Nervonik asit (C24:1)	47,922	39584	1,94
28	cis-4,7,10,13,16,19-dokozaheksaenoik asit (C22:6n3) DHA	53,145	6346	0,31

Tablo 2’de verildiği gibi Gravyer peynirinin yağ asidi kompozisyonunda en büyük payı %27,74 ile palmitik asit almıştır. Bunu %20,00 ile oleik asit ve %11,77 ile miristik asit takip etmiştir. Toplam yağ asidi bakımından değerlendirildiğinde %62,41 ile doymuş yağ asitleri (SFA) en büyük payı oluşturmuştur. Tekli doymamış yağ asitleri (MUFA) %31,39 olarak belirlenirken çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) oranı (%6,20) oldukça düşük kalmıştır. Ürünün hammaddesinin hayvansal kaynaklı olduğu düşünüldüğünde sonuçlar olağandır.

Georgala ve Kaminarides (2006)’in 8 adet Yunan Gravyer peynirinde yaptıkları çalışmada ortalama yağ asidi kompozisyonunu %19,29 asetik asit, %1,75 propionik asit %4,38 bütirik asit, %2,55 kaproik asit, %5,49 kaprilik asit, %1,32 kaprik asit, %1,68 laurik asit, %9,18 miristik asit, %20,18 palmitik asit, %8,37 stearik asit, %21,43 oleik asit, %4,38 linoleik asit olarak belirlemişlerdir.

Çetinkaya ve Öz (2018)’ün 90 gün olgunlaşma aşamasını tamamlayan Kars Gravyerinde doymuş yağ asidi bileşiminin %2,64’ünü bütirik asit, %51,46’sını kaproik asit, %0,74’ünü kaprilik asit, %2,17’sini kaprik asit, %2,67’sini laurik asit, %11,11’ini miristik asit, %1,45’ini pentadekanoik asit, %29,81’ini palmitik asit, %0,97’sini heptadekanoik asit, %15,60’ını stearik asit oluşturmuştur. Doymamış yağ asidi kompozisyonunu %0,66’sını miristoleik asit, %1,64’ünü palmitoleik asit, %22,91’ini oleik asit, %4,96’sını elaidik asit, %0,46’sını linoleik asit, %1,13’ünü eikosenoik asit meydana getirmiştir.

Woo ve ark. (1984) ise İsviçre Gravyerinde kısa zincirli yağ asitlerinin (C4-C6) yüksek oranlarda bulunduğunu ve bu yağ asitlerinin peynir aromasına büyük katkı sağladığını bildirmişlerdir.

#### 4. SONUÇ

Bu araştırmada, Kars ve Ardahan ekonomisine büyük katkı sağlayan Gravyer peynirinin kalite özellikleri ortaya konulmuştur. Çalışmada elde edilen bulgular Ardahan İli'nden temin edilen Gravyer peynirinin TS 2174 standardının tüm kriterlerine uygun olduğu belirlenmiştir. Beslenme açısından, ürün lezzet ve aromasında büyük önemi olan yağ asidi kompozisyonu Gravyer peynirinde belirlenmiştir. Gravyer peynirinde en çok doymuş yağ asitleri tespit edilirken bunu tekli doymamış ve çoklu doymamış yağ asitleri takip etmiştir. Peynirde tespit edilen kısa zincirli yağ asitlerinin ise aromaya katkısının olduğu düşünülmüştür. Bu araştırma gelecekte yapılacak olan Gravyer peyniri ile ilgili araştırmalara ışık tutacaktır.

#### 5. KAYNAKLAR

- Cemeroğlu, B. (2013). Gıda analizleri. Bizim Grup Basımevi, Ankara, 1-85.
- Çavuş, M. & Beykaya, M. (2022). Investigation of some quality properties of Kars Gravyer, Gruyere, and Emmental cheese. *European Journal of Science and Technology*, 35, 187-194.
- Çetinkaya, A., & Öz, F. (2018). Changes in cholesterol and free fatty acid content of Kars Gravyer Cheese A Turkish dairy product produced by the traditional method. *Ukrainian Food Journal*, 7, 4, 409-420.
- Çetinkaya, A., & Öz, F. (2019). Composition and microbiological analysis for quality evaluation of Kars Gravyer cheese influence of ripening period. *Food Science and Technology*, 39, 4, 1052-1058.
- Georgala, A. K., Kaminarides, S. E., & Anifantakis, E. M. (2006). Free fatty acid content of some traditional Greek cheese varieties. *Australian Journal of Dairy Technology*, 61, 4, 26-31.
- Güzeler, N. & Koboyeva, F. (2020). Doğu Anadolu Bölgesinde üretilen peynir çeşitleri. *Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 3, 2, 172-184.
- Ichihara, K., Shibahara, A., Yamamoto, K., & Nakayama, T. (1996). An improved method for rapid analysis of fatty acids of glycerolipids. *Lipids*, 31, 535-539.
- Kamber, U. (2007). The traditional cheeses of Turkey: Eastern Anatolia Region. *Food Reviews International*, 24, 1, 148-174.
- Kamber, U. (2015). Traditional Turkey cheeses and their classification. *Van Veterinary Journal*, 26, 3, 161-171.
- Kamber, U., Elmalı, M., & Yaman, H. (2008). Microbiological and chemical properties of Gravier Cheeses. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi* 3,1, 1-7.
- Konar, N. (2013). Influence of conching temperature and some bulk sweeteners on physical and rheological properties of prebiotic milk chocolate containing inulin. *European Food Research and Technology*, 236, 135-143.
- Kurt, A. & Öztekin, L. (2010). Erzurum İli'nde yapılan mahalli peynirlerden civil peynirlerinin bileşimi ve bunların diğer peynir çeşitleri ile karşılaştırılmaları. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 7, 4, 103-120.
- Özer, İ. (1970). Yerli eritme peynirlerinin kimyasal bileşimi ve bakteriyolojik nitelikleri üzerinde araştırmalar. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 17, 03, 327-351.
- Topuk, Ş. (2014). Kars Gravyer peynirlerinin kalitelerinin araştırılması. *Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, Kars, 47.
- Topuk, Ş., & Sezer, Ç. (2015). Some quality characteristics of Kars gravyer cheese. *Gıda*, 40, 2, 69-75.
- Ulutaş, Z. , Çağlar, A. & Kurt, A. (1993). Kars Gravyer peynirinin yapılışı, duysal, fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerine bir araştırma. *Gıda*, 18, 3, 197-202.
- Üçüncü, M. (2004). A'dan Z'ye peynir teknolojisi. *Mete Basım Matbaacılık*, İzmir.

Üravelli, T. (2022). Geleneksel Kars Gravyer peynirlerinin maya florasının tanımlanması ve çeşitli kalite özellikleri. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir, 77.

Woo, A.H., Kollodge, S., & Lindsay, R.C. (1984). Quantification of major free fatty acids in several cheese varieties. *Journal of Dairy Science*, 67, 874-878.

Zerfiridis, G. K., Vafopoulou-Mastrogiannaki, A., & Litopoulou-Tzanetaki, E. (1984). Changes during ripening of commercial Gruyère cheese. *Journal of Dairy Science*, 67, 1397-1405.



**FARKLI DÜZEYLERDE BROYLER RASYONLARINA İLAVE EDİLEN KEKİK TOZUNUN  
(*Origanum vulgare L.*) BÜYÜME PERFORMANSI ÜZERİNE ETKİLERİ  
EFFECTS OF DIFFERENT POWDER OREGANO (*Origanum vulgare L.*) LEVELS ON  
GROWTH PERFORMANCE OF BROILERS**

**Özlem KARADAĞOĞLU<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları AD, Kars,  
Türkiye

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5917-9565>

**Roshan Riaz<sup>2</sup>**

<sup>2</sup> Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları AD, Kars,  
Türkiye

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0524-9994>

**Hatice Gizem BÜYÜKBAKİ<sup>3</sup>**

<sup>3</sup> Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları AD, Kars,  
Türkiye

<sup>3</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9627-6137>

**Tarkan ŞAHİN<sup>4</sup>**

<sup>4</sup> Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları AD, Kars,  
Türkiye

<sup>4</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0155-2707>

**ÖZET**

Hayvan beslemede antibiyotik kullanımının insanlarda ve hayvansal ürünlerde kalıntı bırakması, bununla beraber bakteriyel direnç oluşturması nedeni ile farklı alternatif yem katkı maddelerinin kullanımı güncelliğini korumaktadır. Antibiyotiklere alternatif olarak kullanılan, fitobiyotikler arasında yer alan kekik (*Origanum vulgare L.*) bol miktarda aktif kimyasal bileşik içeren aromatik bir bitkidir. Bu çalışmada, broyler rasyonlarına farklı düzeylerde toz kekik ilavesinin büyüme performansı üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada, 352 adet 1 günlük yaşta broyler civcivi kullanılmıştır. Denemede her grupta 88 hayvan olacak şekilde 4 grup oluşturulmuştur. Herbir deneme grubu 11 hayvan içeren 8 alt gruba ayrılmıştır. Kontrol grubuna katkı maddesi ilavesi yapılmazken, deneme gruplarına sırası ile 0,5 g/kg, 1 g/kg ve 2 g/kg toz kekik ilavesi yapılmıştır. Yem ve su *ad libitum* olarak sağlanmıştır. Tüm deneme gruplarında rasyonlar izokalorik ve izonitrojenik olarak hazırlanmıştır. Çalışmada hayvanların çevre şartları (sıcaklık, altlık, havalandırma) eşit şartlarda sağlanmıştır. Deneme 42 gün sürmüştür. Çalışma başlangıç ağırlıkları sırasıyla 41,53; 40,58; 40,82 ve 41,28 g olmuştur ( $p>0,05$ ). Deneme sonunda ise ortalama canlı ağırlıklar sırasıyla 2608, 2458, 2452 ve 2429 g olarak hesaplanmıştır ( $p>0,05$ ). Ortalama canlı ağırlık artışı (61,12 g) kontrol grubunda gözlemlenmiştir. En düşük yemden yararlanma oranı (1,27) ve ortalama yem tüketimi (77,62 g) ise aynı deneme grubunda tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ).

**Anahtar Kelimeler:** Broyler, Kekik, Performans.

**ABSTRACT**

The use of antibiotics in animal nutrition, which leaves residues in human and animal products and contributes to bacterial resistance, has kept the relevance of using alternative feed additives. Oregano (*Origanum vulgare L.*), which is among the photobiotic used as an alternative to antibiotics, is an

aromatic herb containing plenty of active chemical compounds. The present study was aimed study aimed to determine the effects of adding different levels of powdered thyme to broiler rations on growth performance. A total of 352 one-day-old broiler chicks were used in the study. In the experiment, 4 groups were formed, with 88 birds in each group. Each experimental group was divided into 8 subgroups with 11 birds each. No additive was added to the control group, while 0.5 g/kg, 1 g/kg, and 2 g/kg powdered thyme were added to the experimental groups, respectively. Feed and water were provided *ad libitum*. Isocaloric and isonitrogenous rations were prepared for all the experimental groups. The environmental conditions (temperature, litter, ventilation) of the animals were ensured to be similar in the study. The trial continued for 42 days. The initial weights were 41.53, 40.58, 40.82 and 41.28g, respectively ( $p > 0.05$ ). At the end of the study, the average body weights were found as 2608, 2458, 2452 and 2429g, respectively ( $p > 0.05$ ). Average weight gain (61.12 g) was observed in the control group. The lowest feed conversion ratio (1.27) and average feed intake (77.62 g) were determined in the same study group ( $p < 0.05$ ).

**Keywords:** Broiler, Oregano, Performance.

## 1. GİRİŞ

Subterapötik seviyelerde antibiyotikler, öncelikle broyler endüstrisinde büyüme performansını artırırken hastalık ve ölüm oranlarını azaltmak için kullanılmıştır. Bununla birlikte, kümes hayvanı ürünlerinde antibiyotik kalıntılarının bulunması ve bakteriyel antibiyotik direncinin ortaya çıkmasındaki dramatik artış nedeniyle antibiyotikler Avrupa Birliği tarafından yasaklanmıştır (Abd El-Hack ve ark. 2022). Bu bağlamda, kümes hayvanlarının büyüme performansını artırmak için alternatif stratejilere gereksinim duyulmuştur. Fitojenik yem katkı maddeleri, bitki bazlı yem katkı maddeleri, hayvan beslemede kullanılan doğal maddeler olup, bitkilerden, baharatlardan, diğer bitkilerden ve bunların özlerinden ve uçucu yağlardan elde edilir. Fitojenik yem katkı maddelerinin, sağlıklı bağırsak ortamını korurken; performansı artırma yetenekleri nedeniyle, yem katkı maddesi olarak hayvan beslemede kullanımına yönelik araştırmalar giderek yaygınlaşmaya başlamıştır. Hayvan beslenmesinde doğal büyüme destekleyicileri olarak kullanılan fitojeniklerin yatırım getirisi sağladığı da kanıtlanmıştır (Murugesan ve ark. 2015; Rahman ve ark. 2022).

Fitobiyotik olarak da bilinen bitkisel katkı maddeleri, bitkilerden yaprak, kök, tohum, çiçek, tomurcuk, kabuk veya bunların ekstraktlarından elde edilen ve eski çağlardan beri beşeri tıpta kullanılan ve farmakolojik etkiler gösteren fitokimyasal bileşiklerdir. Fitobiyotiklerin son yirmi yılda anti-inflamatuar, antibakteriyel, anti-oksidatif ve metabolik modüle edici özellikler dahil olmak üzere çeşitli etkileri olduğu gösterilmiştir (Martel ve ark. 2020; Rafeeq ve ark. 2022). Kanatlı beslemede fitobiyotiklerin katkı maddesi olarak kullanımına dair birçok çalışma yapılmıştır ve güncelliğini korumaktadır (Özsoy ve ark. 2017; Karadağoğlu ve ark. 2018a; Karadağoğlu ve ark. 2018b; Karadağoğlu ve ark. 2019; Ölmez ve ark. 2020a; Ölmez ve ark. 2020b; Şahin ve ark. 2020; Ölmez ve ark. 2021; Ölmez ve ark. 2022; Yesuf ve ark. 2023).

Kekik, birçok varyete ve alt türü ile yaklaşık 400 türü içeren, aromatik ve çok yıllık *Lamiaceae* familyasının bir üyesidir. Bildirilen başlıca beş bileşen linalool, karvakrol, geraniol, timol ve gammaterpineol'dür (Abd El-Hack ve ark. 2020). Önceki çalışmalar, diğerlerinin yanı sıra antioksidan, antibakteriyel, antiinflamatuar, immün sistemi uyarıcı ve sağlığı koruyucu dahil olmak üzere kekiğin çeşitli biyolojik ve koruyucu etkilerine işaret etmiştir (Gumus ve ark. 2022; Zhang ve ark. 2021). Yapılan çalışmalarda, kümes hayvanlarının rasyonlarına kekik ilavesinin performans parametrelerini iyileştirdiği bildirilirken (Toghyani ve ark. 2010; Karadağoğlu ve ark. 2016; Şahin ve ark. 2020), kekiğin böyle bir etkisinin olmadığı da öne sürülmüştür (Saleh ve ark. 2014). Kekik esansiyel yağının et kalitesini iyileştirdiği de bildirilmiştir (Elmalı ve ark. 2014; Bahrami ve ark. 2021, Puvača ve ark. 2022; Gumus ve Gelen 2023).

Yapılan çalışmalarda kekiğin yem katkı maddesi olarak sıklıkla esansiyel yağ formunda kanatlı rasyonlarına katıldığı görülmüştür. Bu çalışmada, broyler rasyonlarına farklı düzeylerde toz kekik ilavesinin büyüme performansı üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. MATERYAL VE METOT

### Barınma ve Besleme:

Bu çalışmada, 352 adet 1 günlük yaşta, ticari Ross 308 etlik piliç civcivleri kullanılmıştır. Denemede her grupta 88 hayvan olacak şekilde 4 grup oluşturulmuştur. Herbir deneme grubu 11 hayvan içeren 8 alt gruba ayrılmıştır. 42 gün boyunca hayvanlar yer bölmelerinde yetiştirilmiştir. Her bir alt grup için eşit bölmeler (1,40 x 1,09) oluşturulmuştur. Altlık malzemesi olarak odun talaşı kullanılmıştır. Yem ve su *ad libitum* olarak verilmiştir. İlk hafta ortam sıcaklığı 32°C iken, ve deneme sonuna kadar sıcaklık 25°C'ye düşürülmüştür. İlk hafta 23 saat ışık uygulaması yapılırken, 8. Günden itibaren 23 saat aydınlık 1 saat karanlık uygulaması yapılmıştır. Kontrol grubuna katkı maddesi ilavesi yapılmazken, deneme gruplarına sırası ile 0,5 g/kg, 1 g/kg ve 2 g/kg toz kekik ilavesi yapılmıştır. Tüm deneme gruplarında rasyonlar izokalorik ve izonitrojenik olarak hazırlanmıştır. Çalışmada civcivler; etlik piliçlerin rasyonları NRC (1994)'nin önerdiği besin madde gereksinimlerine göre hazırlanmıştır. 0-21 günlük periyotta civciv büyütme yemi (%22 HP ve 3000 kcal/kg ME) ve 22-42 günlük periyotta ise etlik piliç yemi (%21 HP 3200 kcal/kg ME) rasyonları ile beslenmiştir. Çalışmada katkı maddesi olarak kullanılan kekik yerel marketlerden temin edilmiş olup, toz haline getirilip 1 mm'lik eleklerden geçirildikten sonra rasyonlara ilave edilmiştir.

### Besi performansı:

Çalışmanın 0-7-14-21-28-35 ve 42. günlerinde, bireysel olarak hayvanların canlı ağırlık (CA) ve canlı ağırlık artışlarını (CAA) belirlemek için tartım işlemi gerçekleştirilmiştir. Canlı ağırlık artışı, fark yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır. Haftalık yem tüketimi (YT), sunulan yem ile tüketilmeyen yem arasındaki farka göre hesaplanmıştır. Yem dönüşüm oranı (YYO), YT'nin CAA bölünmesiyle hesaplanmıştır. CA, CA YT ve YYO oranı verileri haftalık olarak hesaplanmıştır.

### İstatistiksel Analiz:

Rasyonlara ilave edilen katkı maddesinin, etlik civcivlerde incelenen parametreler üzerindeki etkisini değerlendirmek için Duncan'ın çoklu aralık testi ve polinom kontrastlarıyla tek yönlü ANOVA uygulandı. P değerinin 0,05'ten küçük olması anlamlı kabul edildi. Sonuçlar ortalama  $\pm$  SEM olarak sunuldu. Tüm analizler, bilgisayar tabanlı bir istatistiksel yazılım paketinde (SPSS sürüm 22.0, IBM Corp., Armonk, NY, ABD) gerçekleştirildi.

## 3. BULGULAR

Broylerlerin vücut ağırlığı üzerinde farklı düzeylerde (T1, T2 ve T3) kekik tozu takviyesinin etkisi Tablo 1' de sunulmuştur. Sonuçlar, broyler yemine farklı dozlarda kekik tozu takviyesinin karesel bir düşüş gösterdiğini ( $P<0.05$ ) işaret etmektedir. Bununla birlikte takviye grupları arasında anlamlı farklılıklar ( $P>0.05$ ) gözlenmemiştir. Ayrıca, tüm çalışma grupları arasında 0., 7., 14., 28., ve 42. günde de vücut ağırlığında ve toplam vücut ağırlığında (0-42. gün) anlamlı bir değişiklik ( $P>0.05$ ) oluşmamıştır.

**Tablo 1.** Farklı dozlarda kekik tozu ilavesinin etlik piliçlerde canlı ağırlık üzerine etkileri

Parametreler	Kontrol (O $\pm$ SH)	T1 ( O $\pm$ SH)	T2 (O $\pm$ SH)	T3 (O $\pm$ SH)	L	K	KÜ
CA (0. gün)	41,53 $\pm$ 0,28	40,58 $\pm$ 0,45	40,82 $\pm$ 0,31	41,28 $\pm$ 0,37	0,751	0,057	0,553
CA (7. gün)	128,99 $\pm$ 1,93	126,88 $\pm$ 1,49	126,68 $\pm$ 1,83	128,44 $\pm$ 2,97	0,849	0,371	0,997
CA (14. gün)	325,14 $\pm$ 8,74	319,39 $\pm$ 4,36	318,16 $\pm$ 6,27	328,96 $\pm$ 4,25	0,714	0,191	0,788
CA (21. gün)	655,33 $\pm$ 10,93 <sup>a</sup>	604,35 $\pm$ 10,26 <sup>b</sup>	613,73 $\pm$ 16,87 <sup>b</sup>	637,00 $\pm$ 13,93 <sup>ab</sup>	0,448	0,009	0,440
CA (28. gün)	1122,01 $\pm$ 26,31	1057,02 $\pm$ 23,25	1078,90 $\pm$ 4,47	1083,46 $\pm$ 33,72	0,398	0,166	0,349
CA (35. gün)	1790,56 $\pm$ 27,94 <sup>a</sup>	1633,06 $\pm$ 36,49 <sup>b</sup>	1706,80 $\pm$ 23,69 <sup>ab</sup>	1666,45 $\pm$ 37,51 <sup>b</sup>	0,046	0,077	0,022
CA (42. gün)	2608,39 $\pm$ 34,62	2457,95 $\pm$ 92,37	2452,27 $\pm$ 47,11	2428,98 $\pm$ 46,16	0,050	0,293	0,546
CA (0-42. gün)	2566,85 $\pm$ 34,76	2417,37 $\pm$ 92,06	2411,46 $\pm$ 47,19	2387,69 $\pm$ 46,08	0,050	0,298	0,547

CA= Canlı Ağırlığı; O=Ortalama; SH= Standard Hata; T1=0,5 g/kg; T2=1 g/kg; T3= 2 g/kg; L=Linear; K= Kuadratik; KÜ=Küçük, Satırların içindeki farklı üst simgeler, gruplar arasındaki anlamlı farkı tanımlardır (P<0,05).

Tablo 2, broylerlerin vücut ağırlığı artışı üzerinde farklı kekik düzeylerinin etkisini göstermektedir. Kontrol grubuna göre farklı düzeylerde kekik takviyesi yapılan gruplarında vücut ağırlığı artışında anlamlı bir farklılık (P>0.05) gözlenmemiştir. Ancak, üçüncü hafta boyunca, kontrol grubu kekik takviyeli gruplara göre daha yüksek bir vücut ağırlığı artışı göstermiştir (P<0.05). Kekik grupları içinde, üçüncü hafta boyunca, vücut ağırlığı artışı açısından anlamlı farklılıklar (P>0.05) gözlenmemiştir.

**Tablo 2.** Farklı kekik tozu seviyelerinin broylercivcivlerin vücut ağırlık artışı üzerinde etkisi

Parametreler	Kontrol (O±SH)	T1 ( O±SH)	T2 (O±SH)	T3 (O±SH)	L	K	KÜ
CAA (0-7. gün)	12,49±0,26	12,33±0,23	12,27±0,24	12,45±0,39	0,883	0,544	0,911
CAA (7-14. gün)	28,02±1,07	27,39±0,74	27,58±0,91	28,65±0,72	0,600	0,337	0,991
CAA (14-21. gün)	47,17±1,04 <sup>a</sup>	40,71±1,79 <sup>b</sup>	42,23±2,72 <sup>ab</sup>	44,01±2,15 <sup>ab</sup>	0,384	0,051	0,400
CAA (21-28. gün)	66,67±3,15	64,67±3,62	66,45±2,66	63,78±5,85	0,704	0,934	0,649
CAA (28-35. gün)	95,51±3,96	82,29±3,51	89,70±3,17	83,29±7,89	0,202	0,503	0,135
CAA (35-42. gün)	116,83±6,88	117,84 ± 10,81	106,50 ± 9,01	108,93 ± 9,55	0,400	0,938	0,529
CAA (0-42. gün)	61,12 ± 0,83	57,56 ± 2,19	57,42 ± 1,12	56,85 ± 1,10	0,050	0,298	0,547

CAA= Canlı Ağırlığı Artış; O=Ortalama; SH= Standard Hata; T1=0,5 g/kg; T2=1 g/kg; T3= 2 g/kg; L=Linear; K= Kuadratik; KÜ=Küçük, Satırların içindeki farklı üst simgeler, gruplar arasındaki anlamlı farkı tanımlardır (P<0,05).

Tablo 3, broyler diyetlerindeki farklı kekik takviye düzeylerinin yem tüketimine kontrol grubuna göre önemli bir etkisinin olduğunu göstermektedir. İlk hafta boyunca, kontrol grubu kekik takviyeli gruplara göre daha yüksek bir yem tüketimi (P<0.05) göstermiştir. Takviye grupları arasında, en düşük yem tüketimi diğer iki gruba göre T1 takviye grubunda gözlemlenmektedir. T2 grubu, 7-14. gün arasında en yüksek yem tüketimini gösterirken, T3 grubu 14-21. gün arasında en yüksek yem tüketimini göstermiştir ve bu dönemde T2 grubu en düşük yem tüketimini göstermektedir. Çalışmanın 4., 5. ve 6. haftalarında, kontrol grubu, kekik takviyeli gruplara göre en düşük yem tüketimini göstermiştir (P<0.05). Ancak, farklı kekik takviye düzeyleri arasında, çalışmanın 4., 5. ve 6. haftalarında sırasıyla T3, T1 ve T2 en yüksek yem tüketimini göstermiştir. Genel olarak, çalışma dönemi boyunca (0-42. gün), kekik takviyesi kontrol grubuna göre yem tüketiminde artış göstermiştir. Kekik akviye düzeyleri içinde, T3 daha yüksek bir yem tüketimi gösterirken, T1 ve T2 için anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.

**Tablo 3.** Farklı kekik tozu seviyelerinin broylercivcivlerin yem tüketimi üzerinde etkisi

Parametreler	Kontrol (O±SH)	T1 ( O±SH)	T2 (O±SH)	T3 (O±SH)	L	K	KÜ
YT (0-7. gün)	25,63±0,53 <sup>a</sup>	23,48±0,01 <sup>c</sup>	25,18±0,02 <sup>ab</sup>	24,62±0,09 <sup>b</sup>	0,278	0,006	<0,001
YT (7-14 gün)	57,82±0,64 <sup>c</sup>	60,45±0,01 <sup>b</sup>	63,20±0,02 <sup>a</sup>	55,53±0,10 <sup>d</sup>	0,008	<0,001	<0,001
YT (14-21. gün)	61,75±0,10 <sup>b</sup>	65,93±0,02 <sup>c</sup>	70,86±0,01 <sup>d</sup>	80,63±0,02 <sup>a</sup>	0,101	<0,001	0,002
YT (21-28. gün)	61,75±0,10 <sup>d</sup>	65,93±0,02 <sup>c</sup>	70,86±0,01 <sup>b</sup>	80,63±0,02 <sup>a</sup>	<0,001	<0,001	<0,001
YT (28-35. gün)	111,32±0,17 <sup>d</sup>	119,87±0,02 <sup>a</sup>	112,80±0,02 <sup>c</sup>	114,00±0,02 <sup>b</sup>	0,019	<0,001	<0,001
YT (35-42. gün)	127,51±1,71 <sup>c</sup>	131,64±0,01 <sup>b</sup>	135,59±0,01 <sup>a</sup>	130,85±0,02 <sup>b</sup>	0,001	<0,001	0,035
YT (0-42. gün)	77,62 ± 0,68 <sup>c</sup>	79,94 ± 0,01 <sup>b</sup>	80,56 ± 0,01 <sup>b</sup>	81,64 ± 0,04 <sup>a</sup>	<0,001	0,079	0,161

YT= Yem Tüketimi; O=Ortalama; SH= Standard Hata; T1=0,5 g/kg; T2=1 g/kg; T3= 2 g/kg; L=Linear; K= Kuadratik; KÜ=Küçük, Satırların içindeki farklı üst simgeler, gruplar arasındaki anlamlı farkı tanımlardır (P<0,05).

Broyler diyetlerindeki farklı kekik takviyeleriyle önemli bir YYO değişikliği olduğunu görülmüştür (Tablo 4). Rasyondaki kekik miktarı arttıkça, 0-7. gün arasında kübik bir azalma ( $P=0,006$ ) ve 7-14. gün arasında ise kuadratik bir azalma ( $P<0,001$ ) gözlenmektedir. Çalışmanın 4. ve 5. haftaları arasında, T3 en yüksek YYO'ı gösterirken, kontrol grubu en düşük YYO'ı göstermektedir ( $P<0,05$ ). Çalışma süresi boyunca (0-42. günler), kekik takviyeli gruplarda kontrol grubuna göre önemli ölçüde daha yüksek bir YYO gözlemlendi. Bununla birlikte, farklı kekik düzeylerinde beslenen broyler arasında YYO açısından anlamlı bir fark gözlenmemektedir.

**Tablo 4.** Farklı kekik tozu seviyelerinin broylercivcivlerin yemden yararlanma oranı üzerinde etkisi.

Parametreler	Kontrol (O±SH)	T1 (O±SH)	T2 (O±SH)	T3 (O±SH)	L	K	KÜ
YYO (0-7. gün)	2,05±0,01 <sup>a</sup>	1,91±0,04 <sup>b</sup>	2,06±0,04 <sup>a</sup>	1,99±0,05 <sup>ab</sup>	0,855	0,324	0,006
YYO (7-14. gün)	2,08±0,07 <sup>bc</sup>	2,22±0,06 <sup>ab</sup>	2,31±0,07 <sup>a</sup>	1,95±0,04 <sup>c</sup>	0,268	<0,001	0,160
YYO (14-21. gün)	1,74±0,04	1,95±0,09	1,85±0,13	1,94±0,09	0,219	0,521	0,237
YYO (21-28. gün)	0,94±0,05 <sup>b</sup>	1,04±0,06 <sup>b</sup>	1,08±0,04 <sup>b</sup>	1,37±0,18 <sup>a</sup>	0,005	0,333	0,474
YYO (28-35. gün)	1,18±0,05 <sup>b</sup>	1,48±0,07 <sup>a</sup>	1,27±0,05 <sup>ab</sup>	1,47±0,16 <sup>a</sup>	0,119	0,629	0,038
YYO (35-42. gün)	1,12 ± 0,07	1,20 ± 0,13	1,33 ± 0,11	1,27 ± 0,11	0,242	0,516	0,594
YYO (0-42. gün)	1,27 ± 0,02 <sup>b</sup>	1,40 ± 0,06 <sup>a</sup>	1,41 ± 0,03 <sup>a</sup>	1,44 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,005	0,190	0,337

YYO= Yemden yararlanma oranı; O=Ortalama; SH= Standard Hata; T1=0,5 g/kg; T2=1 g/kg; T3= 2 g/kg; L=Linear; K= Kuadratik; KÜ=Kübik, Satırların içindeki farklı üst simgeler, gruplar arasındaki anlamlı farkı tanımlar (P<0,05).

#### 4. SONUÇ

Sonuç olarak, broyler rasyonlarına farklı dozlarda ilave edilen kekik tozunun etkileri incelendiğinde, performans parametreleri bakımından doz miktarı arttıkça canlı ağırlık ve canlı ağırlık artışı üzerine herhangi bir olumsuz etkisi görülmemiştir. Ancak yem tüketimi ve yemden yararlanma bakımından ise artan dozların performansı negatif yönde etkilediği tespit edilmiştir.

#### 5. KAYNAKÇA

Abd El-Hack, M. E., Abdelnour, S. A., Taha, A. E., Khafaga, A. F., Arif, M., Ayasan, T., ... & Abdel-Daim, M. M. (2020). Herbs as thermoregulatory agents in poultry: An overview. *Science of the Total Environment*, 703, 134399.

Abd El-Hack, M. E., El-Saadony, M. T., Saad, A. M., Salem, H. M., Ashry, N. M., Ghanima, M. M. A., ... & El-Tarabily, K. A. (2022). Essential oils and their nanoemulsions as green alternatives to antibiotics in poultry nutrition: a comprehensive review. *Poultry science*, 101(2), 101584.

Elmalı, D. A., Yakan, A., Kaya, O., Elmalı, M., Onk, K., Şahin, T., & Durna, O. (2014). Effects of plant extracts and (essential) oil mixture on breast meat quality of Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*). *Revue Méd Vét*, 165(3-4), 104-10.

Gumus, R., Ercan, N., and Imik, H. (2022): The effect of thyme essential oil (*Thymus vulgaris*) added to quail diets on performance, some blood parameters, and the antioxidative metabolism of the serum and liver tissues, *Braz. J. Poult. Sci.*, 19, 297–304.

Gumus, R. and Gelen, S. U. (2023): Effects of dietary thyme and rosemary essential oils on performance parameters with lipid oxidation, water activity, pH, colour and microbial quality of breast and drumstick meats in broiler chickens, *Arch. Anim. Breed.*, 66, 17–29, <https://doi.org/10.5194/aab-66-17-2023>.

Karadağoğlu, Ö., Önk, K., Şahin, T., Bingöl, S. A., Aksu Elmalı, D., & Durna, Ö. (2016). Effects of different levels of essential oil mixed (peppermintthyme-anise oil) supplementation in the drinking water on the growth performance, carcass traits and histologic structure of terminal ileum in quails. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 22 (2), 253-60.

- Karadağoğlu, Ö., Özsoy, B., Ölmez, M., Aydın, Ö. D., & Şahin, T. (2018a). The effects of drinking water supplemented with essential oils on performance, egg quality and egg yolk fatty acid composition in laying hens. *Acta Veterinaria Eurasia*, 44(2), 85-92.
- Karadağoğlu, Ö., Ölmez, M., Özsoy, B., & Şahin, T. (2018b). Yumurtacı tavuk rasyonlarına ilave edilen esansiyel yağ ve organik asit karışımının performans, yumurta verimi ve kalite parametreleri üzerine etkisi. *Hayvansal Üretim*, 59(1), 9-15.
- Karadağoğlu, Ö., Şahin, T., Ölmez, M., Ahsan, U., Özsoy, B., & Önk, K. (2019). Fatty acid composition of liver and breast meat of quails fed diets containing black cumin (*Nigella sativa* L.) and/or coriander (*Coriandrum sativum* L.) seeds as unsaturated fatty acid sources. *Livestock Science*, 223, 164-171.
- Martel, J., D. M. Ojcius, Y. F. Ko, and J. D. Young. 2020. "Phytochemicals as Prebiotics and Biological Stress Inducers." *Trends in Biochemical Sciences* 45 (6): 462–471.
- Murugesan, G. R., Syed, B., Haldar, S., & Pender, C. (2015). Phytogenic feed additives as an alternative to antibiotic growth promoters in broiler chickens. *Frontiers in veterinary science*, 2, 21.
- NRC. (1994). Nutrient requirements of poultry. 9th rev. Natl. Acad. Press, Washington, DC., US.
- Ölmez, M., Şahin, T., Karadağoğlu, Ö., Sarı, E. K., Işık, S. A., Kirmizibayrak, T., & Yörük, M. A. (2020a). The impact of an essential oil mixture on growth performance and intestinal histology in native Turkish geese (*Anser anser*). *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 26(5), 625-31.
- Ölmez, M., Şahin, T., Makav, M., & Karadağoğlu, Ö. (2020b). Effect of resveratrol supplemented to japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) rations on performance and some biochemical parameters. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 26(6).
- Ölmez, M., Şahin, T., Karadağoğlu, Ö., Yörük, M. A., Kara, K., & Dalğa, S. (2021). Growth performance, carcass characteristics, and fatty acid composition of breast and thigh meat of broiler chickens fed gradually increasing levels of supplemental blueberry extract. *Tropical Animal Health and Production*, 53, 1-8.
- Ölmez, M., Sahin, T., Karadagoglu, O., Yoruk, M., Sari, E., Aras, S., ... & Makav, M. (2022). Effect Of Herbal Extract Mixture On Growth Performance And Antioxidant Parameters İn Broilers. *Journal Of The Hellenic Veterinary Medical Society*, 73(2).
- Özsoy, B., Ölmez, M., Karadağoğlu, Ö., & Şahin, T. (2017). Determination of the effect of mixture of essential oil and organic acid containing at different levels on broiler rations on fattening performance, carcass parameters and some internal organ weights. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 57(2), 77-82.
- Puvača, N., Tufarelli, V., & Giannenas, I. (2022). Essential oils in broiler chicken production, immunity and meat quality: Review of *Thymus vulgaris*, *Origanum vulgare*, and *Rosmarinus officinalis*. *Agriculture*, 12(6), 874.
- Rafeeq, M., R. M. Bilal, M. Alagawany, F. Batool, K. Yameen, M. R. Farag, S. Ali, S. S. Elnesr, and N. A. El-Shall. 2022. "The use of some herbal plants as effective alternatives to antibiotic growth enhancers in poultry nutrition." *World's Poultry Science Journal*, <https://doi.org/10.1080/00439339.2022.2151395>.
- Rahman, M. R. T., Fliss, I., & Biron, E. (2022). Insights in the development and uses of alternatives to antibiotic growth promoters in poultry and swine production. *Antibiotics*, 11(6), 766.
- Şahin, T., Sural, T., Ölmez, M., & Karadağoğlu, Ö. (2020). Bitkisel ekstrakt karışımlarının broylerlerde performans, karkas randımanı ve bazı iç organ ağırlıkları üzerine etkisi. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 91(2), 137-146.
- Yesuf, Y. K., Tamir, B., Tesfaye, E., & Beyero, N. (2023). The synergetic effects of some phytobiotics mix on growth, hematology and microbial loads of broiler chickens. *Animal Biotechnology*, 1-7.

Zhang, L. Y., Peng, Q. Y., Liu, Y. R., Ma, Q. G., Zhang, J. Y., Guo, Y. P., and Zhao, L. H.: Effects of oregano essential oil as an antibiotic growth promoter alternative on growth performance, antioxidant status, and intestinal health of broilers, *Poultry Sci.*, 100, 101163.

**TORSİYO UTERİLİ BİR İNEKTE B-MOD VE DOPPLER ULTRASONOGRAFİ**  
**B-MODE AND DOPPLER ULTRASONOGRAPHY IN A COW WITH UTERINE TORSION**

**Murat Can DEMİR<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Dr. Öğr. Üyesi, Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Kars, Türkiye.*

<sup>1</sup>*ORCID ID: 0000-0002-3803-069X*

**Cihan KAÇAR<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>*Prof. Dr., Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Kars, Türkiye.*

<sup>2</sup>*ORCID ID: 0000-0002-2642-697X*

**ÖZET**

Torsiyo uteri sığır yetiştiriciliğinde en sık karşılaşılan obstetrikal problemlerden biridir ve dolayısıyla doğum sonrası reproduktif performansı ve süt ekonomisini etkilemektedir. Bu olgunun materyalini Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Sağlığı Eğitim Araştırma ve Uygulama Hastanesi Doğum ve Jinekoloji Kliniğine güç doğum şikayetiyle getirilen 5 yaşlı Simental melezi bir inek oluşturdu. Alınan anemneze göre doğum belirtilerinin 10 gün önce başladığı bildirildi. Vaginal muayenede daralma ve sağa doğru kıvrımların olduğu belirlenip, torsiyo uteri tanısı konuldu. Rektal muayene sırasında uterus gergin olduğundan dolayı yavrunun canlı olduğunu gösteren hiçbir bulgu elde edilemedi. Yapılan B-Mod ultrasonografik muayene sırasında plasentomlar ve yavru suları görüntüleri kaydedildi. Renkli Doppler modunda plasentom perfüzyon alanları, Spektral Doppler modunda ise uterin arterlerden elde edilen rezistans indeksi, pulsatil indeksi, kan akım hacmi, ortalama kan akım hızı ve puls oranı verileri kaydedildi. Doğumun son periyodu fizyolojik verilerle karşılaştırdığımız zaman plasentom boyutunda, uterin arter çapında, plasentom perfüzyonunda, kan akım hacminde, ortalama kan akım hızında azalma gözlenirken, rezistans indeksi ve pulsatil indekste artış belirlendi. Yavru sularında ise ortalama piksel değerleri (ekojenite) artış gösterdi. Normal doğum süresi geçtiğinden dolayı sezaryen operasyonuna başvuruldu. Operasyon sonunda ölü bir erkek buzağı alındı. Yavruda kokuşma olmadığı ve yavru zarlarının operasyon esnasında kolaylıkla ayrıldığı görüldü. Ayrıca uterusun aşırı ödemli, gevrek, yavrunun amfizemli, yavru zarlarının masere olduğu belirlendi. Sonuç olarak torsiyo uteri vakalarında ultrasonografi ile fetüsün durumu (canlı veya ölü), uterusun içeriği tespit edilebilir ve uterin arterden elde edilecek veriler ile daha az manipülasyonla torsiyo uteri vakalarının prognozu belirlenebilir.

**Anahtar kelimeler:** Doppler, ekojenite, inek, torsiyo uteri, ultrasonografi, uterin arter

**ABSTRACT**

The uterine torsion is one of the commonest encountered obstetrical ailments in bovine practice, thereby impeding the postpartum performance and dairy economics. The material of this case consisted of a 5-year-old Simmental crossbred cow which brought to the Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Veterinary Medicine, Animal Health Training and Research Hospital of Kafkas University. According to the anamnesis, labor symptoms started 10 days ago. Vaginal examination revealed narrowing and rightward folds and torsio uteri was diagnosed. During rectal examination, no findings indicating that the fetus was alive could not be obtained because the uterus was tense. During the B-Mode ultrasonographic examination, images of placentomes and fetal fluids were recorded. Placentome perfusion areas were recorded in Color Doppler mode and resistance index, pulsatile index, blood flow volume, mean blood flow velocity and pulse rate data obtained from uterine arteries were recorded in Spectral Doppler mode. When we compared the last period of labor with physiologic data, we observed



a decrease in placentome size, uterine artery diameter, placentome perfusion, blood flow volume, mean blood flow velocity, and an increase in resistance index and pulsatile index. Mean pixel values (echogenicity) increased in fetal fluids. Since the normal delivery period had passed, cesarean section was applied. One male dead calf was removed at the end of the operation. There was no putrefaction in the calf and the calf membranes were easily separated during the operation. In addition, it was noted that the uterus was excessively edematous, brittle, the offspring was emphysema, and the offspring membranes were macerated. In conclusion, in cases of torsio uteri, ultrasonography can be used to determine the status of the fetus (whether live or dead), the contents of the uterus, and with the data obtained from the uterine artery, the prognosis of uterine torsion cases can be determined less manipulations.

**Keywords:** Doppler, echogenicity, cow, torsio uteri, ultrasonography, uterine artery

## 1.GİRİŞ

Sığırlarda reproduktif performans; gebelik sırasındaki zorluklar, doğum ve doğum sonrası olaylar gibi çeşitli faktörlerden ciddi şekilde etkilenmektedir. Bunlar arasında torsio uteri, hayvancılık ekonomisinde büyük bir kayba yol açmakta olup, süt hayvanlarının sağlığı ve karlılığı üzerine de bir negatif etkiye sahiptir (Schonfelder ve Hasenclever, 2005). Torsio uteri, genellikle gebe bir kornuda meydana gelen, uterusun uzunlamasına ekseninde çeşitlik derecelerde bükülmesi olarak tanımlanmaktadır (Schonfelder ve ark., 2011). Sığır genital sistem anatomisi, gebelik sırasında torsiyona zemin hazırlar (Roberts, 1986; Noakes ve ark., 2001). Torsiyon, gebeliğin sonunda distosinin ana nedeni olarak sıklıkla bildirilmektedir (Mishra ve ark., 2015). Köpek (Brown, 1974), kobay (Kunstyr, 1981), geyik (Dhaliwal ve ark., 1986), tavşan (Hobbs ve Parker, 1990), lama (Hopkins ve ark., 1991.), deve (Cebra ve ark., 1997), koyun (Ijaz ve Talafha, 1999), sığır (Cergolj ve ark., 1999), kedi (Thilagar ve ark., 2005), manda (Prabhakar ve ark., 1994; Sutaria ve ark., 2015), kısırak (Jung ve ark., 2008; Sutaria ve ark., 2014) ve hatta insanda (Jensen, 1992) torsio uteri vakaları bildirilmiştir.

Maternal fetal veya her ikisinin bir kombinasyonu olarak sınıflandırılan torsiyon için çeşitli nedenler tanımlanmıştır. Bununla birlikte, torsio uterinin zemin hazırlayan faktörler/nedenler tam olarak anlaşılammıştır (Schonfelder ve Sobiraj, 2005). Maternal faktörler arasında, ligamentlerin bağlanma şekli ve kas yapısı, gebe olan kornu uterinin büyümesi ve konumu, barınma yeri, ani hareketler, dengesiz yürüyüş, yaş, boş rumen, vücut yapısı ve hormonal profiller yer alırken, fetal faktörler arasında buzağının doğum ağırlığı, cinsiyet, prezantasyonu, hareketleri, amniyotik sıvı miktarının azalması ve uterus tonusu yer almaktadır (Ghuman, 2010).

Etkilenen hayvanların klinik belirtileri; sancı, ıkınma ve kısmi iştahsızlık ile birlikte doğumun durmasıdır. Ancak hem annenin hem de fetüsün hayatını tehdit ettiği için acil müdahale gerektirir. Torsio uterus tanısı için vaginal ve rektal muayene gereklidir. Rektumdaki ligamentlerin gerilmesi ile birlikte bükülmüş olan vagina ve kornu uteri, torsiyonunun yönünü verir. Torsio uterili hayvanlar, genellikle olgunun başlamasından belli bir zaman sonra tespit edilebilir ve ilerleyen klinik belirtiler sonucunda endotoksemi oluşabilir. Uzamış torsio uteri vakalarında yaygın bakteriyemi, endotoksemi ve/veya kardiyovasküler yetmezlik, annenin ölümüyle sonuçlanır (Roberts, 1986).

Torsio uteri vakalarında ilk öncelikle toksemi ve şokla mücadele etmek için gerektiğinde sıvı tedavisi, geniş spektrumlu antibiyotikler, analjezikler ve antihistaminikler kullanılmalıdır. Belirlenecek prosedür ile modifiye Schaffer yöntemi veya laparohisterotomi/sezaryen operasyonu ile başarılı bir şekilde tedavi edilebilir. Modifiye Schaffer yöntemi her vakada başarılı olamayabilir ve uterus rüptürü, karın içi kanamalar, hayati organlarda hasar/travma, karın duvarında yırtılmalar/yaralanmalar vb. komplikasyonlarla sonuçlanabilir. Ciddi derecede torsio uterili bir inek cerrahi olarak tedavi edilirse hayvanın hayatta kalma şansı artırılabilir ve bu operasyon sonucu, sonraki yaşantısında üreme sürecini devam ettirmek için daha ideal bir seçenek olacaktır (Ghuman, 2010, Megahed, 2018).

Sadece fiziksel muayene, teşhis ve tedavi için yeterli olmayabilir. Real time B mod ve Doppler ultrasonografi gibi gelişmiş teknikler, tanı ve prognoz hakkında daha net bilgi verebilir.

Dişi üreme sistemi invaziv olmayan yapısı nedeniyle düzenli olarak ultrasonografi ile değerlendirilir (Ginther ve ark., 1989). Torsio uteri, iskemi ve hücre ölümüyle sonuçlanarak uterus duvarında geri

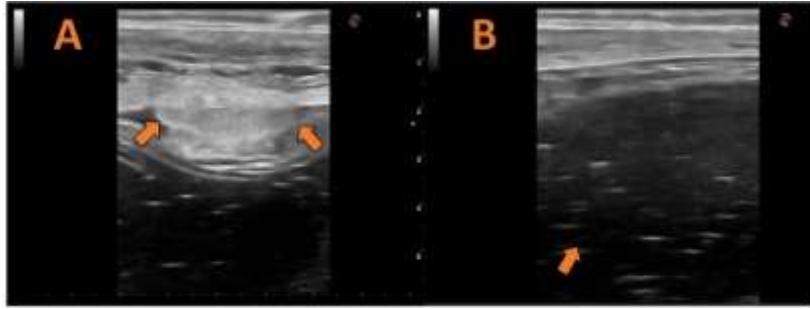
dönüşü olmayan değişikliklere, yani uterus duvarının elastikiyetinin ve canlılığının kaybına neden olur, dolayısıyla uterus duvarı nekroz, frajil ve ruptura eğilimli hale gelir (Baker, 1988; Pearson ve Denny, 1975; Tamm, 1997; Noakes ve ark., 2001). Ayrıca torsiyo uteri aynı zamanda uterus perforasyonu (Pickel ve ark., 1990), ovaryan ven rüptürü (Blanchard, 1981), hemoperitoneum (Jadhao ve ark., 1993), idrar kesesinin torsiyonu (Kochhar ve ark., 1994) ve intestinal obstrüksiyon (Dhaliwal ve ark., 1992) ile sonuçlanabilir. Yukarıda belirtilen tüm bu durumlar, fiziksel muayenelerle değerlendirilememektedir; bu nedenle torsiyo uteride ultrasonografinin kullanılması endikedir.

Bu olgu sunumunda, torsiyo uterili bir inekte rektal muayenenin yetersiz kaldığı yerde hem B-mod hem de Doppler ultrasonografik muayenelerle tanıyı netleştirmek ve fetüsün prognozu hakkındaki bilgilerin değerlendirilmesi amaçlandı.

## 2.OLGU TANIMI

Bu olgunun materyalini Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Sağlığı Eğitim Araştırma ve Uygulama Hastanesi Doğum ve Jinekoloji Kliniğine güç doğum şikayetiyle getirilen 5 yaşlı Simental melezi bir inek oluşturdu. Alınan anemneze göre doğum belirtilerinin 10 gün önce başladığı bildirildi. Yapılan klinik muayenede vaginada daralma ve sağa doğru kıvrımların olduğu belirlendi. Rektal muayene sırasında uterus gergin olduğundan dolayı yavrunun canlı olduğunu gösteren hiçbir bulgu elde edilemedi.

B mod ve Doppler ultrasonografik muayene için ESAOTE marka Mylab DeltaVet model (Esaote Biomedica®, Genova, Italy) Doppler ultrasonografi cihazı ve bu cihaza ait 5-10 MHz (otomatik) multifrekans özelliği bulunan linear prob kullanıldı. Yapılan B-Mod ultrasonografik muayene sırasında plasentomlar ve yavru suları görüntüleri kaydedildi (Şekil 1).



Şekil 1: A: Plasentom görüntüsü, B: Yavru suyu görüntüsü.

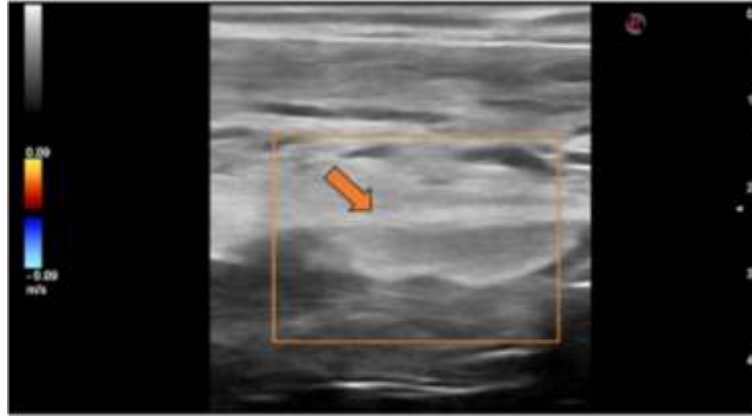
Renkli Doppler modunda plasentom perfüzyon alanları, Spektral Doppler modunda ise uterin arterlerden elde edilen rezistans indeks, pulsatil indeks, kan akım hacmi, ortalama kan akım hızı ve puls oranı verileri kaydedildi (Şekil 2). Elde edilen Doppler görüntülerinde plasentom perfüzyon değerlerinin ve uterin artere ait hemodinamik parametrelerin hesaplanmasında PixelFlux yazılım programından (Chameleon® Software, Münster Germany) yararlanıldı.



**Şekil 2:** Uterin arterden alınan bir spektral Doppler görüntüsü (U.A: Uterin arter)

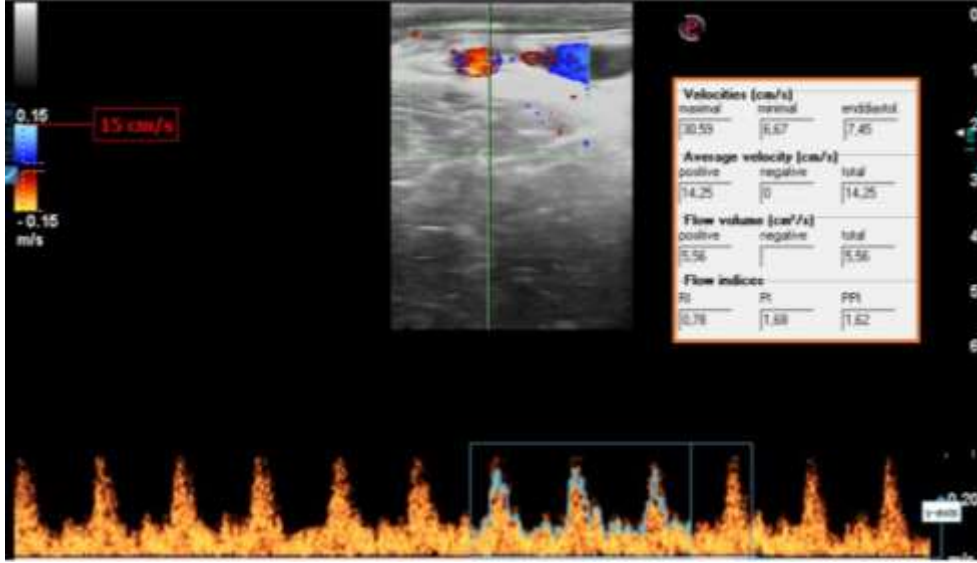
B-mod ekotekstür analizlerinden elde edilen plasentomların alanları gebeliğin son dönemine oranla daha küçük olduğu ve yavru sularında da hiperekojen parlamaların görüldüğü belirlenmiştir. Ayrıca ultrasonografik görüntülerde plasenta içeriğinde normal fizyolojide olmadığı tespit edilmiştir.

Renkli Doppler ile yapılan ultrasonografik muayenede plasental perfüzyon bulgularında herhangi bir sayısal değere ulaşamamıştır çünkü alanda en ufak bir perfüzyon alana rastlanılmamıştır (Şekil 3).



**Şekil 3:** Renkli Doppler de ilgili alandaki plasentom üzerinde herhangi bir perfüzyonun olmaması  
(Ok: Plasentom)

Spektral Doppler modunda ise uterin arterlerden elde edilen rezistans indeks değeri 0,78; pulsatil indeks değeri 1,8; kan akım hacmi 5,56; ortalama kan akım hızı 14,25 ve puls oranı 110 olarak belirlenmiştir (Şekil 4). Doğumun son periyodu fizyolojik verilerle karşılaştırdığımız zaman plasentom boyutunda, uterin arter çapında, plasentom perfüzyonunda, kan akım hacminde, ortalama kan akım hızında azalma gözlenirken, rezistans indeks ve pulsatil indekste artış belirlendi. Yavru sularında ise ortalama piksel değerleri (ekojenite) artış gösterdi.



Şekil 4: Uterin arterden alınan bir spektral Doppler görüntüsünün değerlendirilmesi

Yapılan muayeneler sonucunda torsiyö uteri tanısı konuldu. Rektal ve ultrasonografik bulgular elde edildikten sonra yavrunun canlılığına dair herhangi bir bulgu saptanamadı ve ayrıca normal doğum süresi geçtiğinden dolayı sezaryen operasyonuna karar verildi. Operasyon için sol açıklık çukurluğu tercih edildi. Deri, kas katmanları ve periton ensize edildikten sonra karın boşluğuna geçerek uterusu ulaşıldı. Operasyon sonunda ölü bir erkek buzağı alındı (Şekil 5). Yavruda kokuşma olmadığı ve yavru zarlarının operasyon esnasında kolaylıkla ayrıldığı görüldü. Ayrıca uterusun aşırı ödemli, gevrek, yavrunun amfizemli, yavru zarlarının masere olduğu belirlendi. Uterus içine, herbirinde Klortetrasiklin hidroklorür (Devamisin<sup>®</sup>, 500 mg, tablet) bulunan beş adet oblet bırakılıp ensizyon hattı uygun dikişlerle kapatıldıktan sonra oksitosin (Vetaş<sup>®</sup>, 50 IU) uterus mukozasının farklı bölgelerine enjekte edildi. Ardından uterus normal konumuna yerleştirildi. Daha sonra karın duvarı da uygun yöntemlerle kapatılarak dikiş hattına ve periton boşluğuna penicilin (Penokain-G<sup>®</sup>) ve parenteral amoksisilin (Amoxynil<sup>®</sup>, 15 mg/kg, IM) içeren antibiyotik enjeksiyonları yapıldı. Operasyon esnasındaki kan ve sıvı kaybından dolayı hipovolemik şoku önlemek için parenteral sıvı tedavisi uygulandı. İnek operasyon sonunda sahibine teslim edilerek parenteral antibiyotik uygulamasının yedi gün daha devamı ve on gün sonra da dikişlerin alınması tavsiye edildi.



Şekil 5: Sezaryen operasyonu sonrası ölü olarak çıkarılan buzağının görüntüsü

### 3. TARTIŞMA VE SONUÇ

Torsiyö uteri vakalarında sadece fiziksel muayene yeterli değildir, bu nedenle ultrasonografi gibi ileri tanı teknikleri klinik olgunun prognozunu değerlendirmek için güçlü bir araç olabilir. Renkli Doppler ultrasonografisi, torsiyö uteri durumunda vasküler perfüzyon hakkında çok önemli fikirler verir. Ultrasonografik görüntülerin kantitatif değerlendirmesi bize uterus sağlığı durumunun tarafsız bir

yorumunu verecektir. Bu nedenle, torsiyo uteride ultrasonografi kullanımı, uygun klinik değerlendirmeye, tedavi seçeneğine ve prognoza yardımcı olacaktır.

Sonuç olarak torsiyo uteri vakalarında ultrasonografi ile fetüsün durumu (canlı veya ölü), uterusun içeriği tespit edilebilir ve uterin arterden elde edilecek veriler ile az manipülasyonla uterus torsiyonu vakalarının prognozu belirlenebilir.

#### 4. KAYNAKÇA

Blanchard T.L. (1981). Uterine torsion with ovarian vein rupture in a ewe. *J Am Vet Med Assoc.*, 179(12):1402-3.

Brown A.J. (1974). Torsion of the gravid uterus in a bitch. *Vet Rec.*, 94(10): 202.

Cebra C.K., Cebra M.L., Garry F.B., Johnson L.W. (1997). Surgical and nonsurgical correction of uterine torsion in New World camelids: 20 cases (1990-1996). *J Am Vet Med Assoc.*, 211(5):600-2.

Cergolj M., Tomaskovic A., Makek Z. (1999). Diagnosis and treatment of uterine torsion during pregnancy in cattle. *Tierärztliche Umschau*, 54: 79-83.

Dhaliwal G.S., Prabhakar S., Sharma R.D. (1992). Intestinal obstruction in association with torsion of uterus in a buffalo. *Pakistan Vet J.*, 12: 42-43

Dhaliwal GS, Vashista NK, Sharma RD. (1986). Uterine torsion in a goat - A case report. *Ind J Anim Reprod.*, 7: 90-91.

Ghuman S.P.S. (2010). Uterine torsion in bovines: A review. *Ind J Anim Sci.*, 80: 289-305.

Ginther O.J., Kastelic J.P., Knopf L. (1989). Comparison and characteristics of follicular waves during the bovine estrus cycle. *Anim Reprod Sci.*, 20: 187-200.

Hobbs B.A., Parker R.F. (1990). Uterine torsion associated with either hydrometra or endometritis in two rabbits. *Lab Anim Sci*, 40(5):535-6.

Hopkins S.M., Althouse G.C., Jackson L.L., Evans L.E (1991). Surgical treatment of uterine torsion in a llama (*Lama glama*). *Cornell Vet.*, 81(4):425-8.

Ijaz A., Talafha A.Q. (1999) Torsion of the uterus in an Awassi ewe. *Aust Vet J.*, 77(10):652-3.

Jadhao P.T., Markandeya N.M., Rautmare S.S. (1993). Uterine torsion along with haemoperitoneum in a buffalo. *Ind J Anim Reprod.*, 4: 59.

Jensen J.G. (1992). Uterine torsion in pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand.*, 71(4):260-5.

Jung C., Hospes R., Bostedt H., Litzke L.F. (2008). Surgical treatment of uterine torsion using a ventral midline laparotomy in 19 mares. *Aust Vet J.*, 86(7):272-6.

Kochhar H.P.S., Prabhakar S., Singh Prakash, Nanda A.S., Singh P. (1994). Rotation of urinary bladder with torsion of uterus in a buffalo. *Ind Vet J.*, 71: 388-389.

Kunstýr I. (1981). Torsion of the uterus and the stomach in guinea pigs. *Z Versuchstierkd*, 23(1): 67-9.

Megahed G.A. (2018). A Strategic plan to deal with the uterine torsion in the Egyptian buffalo. *J Dairy Vet Sci.*, 7: 555702.

Mishra P.K., Umed S., Pandey A.K. (2015). Effect of exogenous administration of vitamin-E-selenium and vitamin-C on serum Cortisol and antioxidant levels in buffaloes suffering from uterine torsion. *Haryana Veterinarian*, 54(2):164-167.

Noakes D.E., Parkinson D.J., England G.C.W. (2001). Maternal dystocias. *Arthurs Veterinary Reproduction and Obstetrics*, (Ed.), Noakes D E. Saunders Harcourt, India.

Pickel M., Dirksen G., Grunert E. (1990). Uterusperforation nach Retorsionsversuch bei einer Torsio uteri im 5. Monat der Trächtigkeit. Bildbericht [Uterine perforation following an experiment in the correction of a uterine torsion in the 5th month of pregnancy. Illustrated report]. *Tierarztl Prax*, 18(5):469-72.

- Prabhakar S., Singh P., Nanda A.S., Sharma R.D., Singh P. (1994). Clinicoobstetrical observations on uterine torsion in bovines. *Ind Vet J.*, 71: 822-824.
- Roberts S.J. (1986). Diagnosis and treatment of the various types of dystocia. In: *Veterinary Obstetrics and Genital Diseases (Theriogenology)*. 3rd edn by authors, Ithaca, New York.
- Schonfelder A., Hasenclever D. (2005). Cost-utility analysis of surgical obstetrics in bovines with torsio uteri intrapartum. *Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift*, 118: 490-494.
- Schonfelder A., Richter A., Sobiraj A. (2005). Doppler ultrasound studies of the uterine arteries in cows with spontaneous parturition and with uterine torsion intra partum. *Wiener Tierarztliche Monatsschrift*, 92: 74-80.
- Schönfelder A., Sobiraj A. (2005). Aetiologische Aspekte der Torsio uteri beim Rind: Eine Übersicht [Etiology of torsio uteri in cattle: a review]. *Schweiz Arch Tierheilkd.* 2005;147(9):397-402.
- Sutaria T.V., Kapadiya P.S., Nakhshi H.C., Chauhan P.M., Suthar B.N., Sharma V.K. (2015). Study on treatment efficacy of uterine torsion in Mehsana buffaloes. *Ruminant Science*, 4(1):109-111.
- Sutaria T.V., Nakhshi H.C., Dodia V.D., Patel H.G., Sutaria P.T. (2014). Maternal dystocia due to uterine torsion in mare. *Intas Polivet*, 15(2): 266-268.
- Thilagar S., Yew Y.C., Dhaliwal G.K., Toh I., Tong L.L. (2005). Uterine horn torsion in a pregnant cat. *Vet Rec.*, 157(18):558-60.

**PANDEMİ SÜRECİNDE BİR SERÜVEN: ARDAHAN'DA KOYUNCULUK**  
**AN ADVENTURE IN THE PANDEMIC PROCESS: SHEEP RAISING IN ARDAHAN**

<sup>1</sup> *Raziye Filiz AKKUŞ*

<sup>1</sup> *Öğretim Görevlisi, Ardahan Üniversitesi, Teknik Bilimler MYO, Ardahan, Türkiye*

<sup>1</sup> *ORCID ID: 0000-0003-4676-3241*

<sup>2</sup> *Vedat BARAN*

<sup>2</sup> *Prof. Dr. Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Kars, Türkiye*

<sup>2</sup> *ORCID ID: 0000-0003-3466-5345*

**ÖZET**

Dünyayı ve beraberinde Türkiye'yi etkisi altına alan pandemi insanlarda kalabalık ortamlardan uzaklaşma isteğini tetiklemiştir. Buna bağlı olarak yaşama korkusu ve gıdaya olan aşırı yüklenme ile insanlarda sürekli bir alışveriş isteği oluşturmuştur. Markete gitmekten korkanlar internet üzerinden alışveriş oranını artırmıştır. Bunun yanı sıra birçok insan gıdaya daha hızlı ulaşma yolu olarak organik yaşama ve köye dönüş fikrini benimsemiştir. Ülkemizin ve bölgemizin tarım ve hayvancılığa yatkın bir özelliğe sahip olması insanlarda köye dönüşün önemli bir sebebi haline gelmiştir. Bununla beraber ülkemiz hayvancılık açısından koyun yetiştiriciliğine coğrafi konum ve iklim şartları kapsamında oldukça elverişli olması ve Türkiye genelinde yürütülen bir takım teşvik projelerinin varlığı köye ve hayvancılığa karşı var olan bakış açısının ilerlemesine katkıda bulunmuştur. Bu projeler dahilinde Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından yürütülen ve Türkiye'nin birçok yerinde olduğu gibi bölgemizde de oldukça ilgi çekici olan "Köyümde yaşamak için bir sürü nedenim var" projesi ile yetiştiricilerin ve hayvancılığa ilgi duyan diğer insanların koyunculuğa olan ilgisinde önemli bir artışa neden olmuştur. Pandemi öncesinde de koyunculukla uğraşanların yanı sıra, pandemi ile köyle ve hayvancılıkla özelliklede koyunculuk ile tanışanların koyunculuğu tercih etmelerinde pandemi ve projeler dışında birçok neden sayılabilir. Bu nedenler arasında koyunun kolay elde edilebilir olması, bakım ve beslenme şartlarının ülkemiz ve özellikle de bölgemize uygun olması, büyükbaş hayvancılığa oranla daha masrafsız olması, sürü bazında değerlendirilmesi ile ucuz ve maliyeti düşük olması sıralanabilir. Koyunların sürü bazında değerlendirilmesinde en önemli avantajı kayıpların tolere edilebilir düzeyde olmasıdır. Koyun yetiştiriciliğinde bakım ve barınma şartlarının uygun hale getirilmesi, doğru bakıcı seçilmesi, hastalıklarda tedavi değil de koruma ve kontrol programlarının tercihi ve veteriner hekimlerle sürekli iletişim halinde olunması oldukça önem arz etmektedir. Bu da ekonomik olarak hem yetiştiricilerin daha iyi kazanç sağlamasına hem de bölge halkının kalkınmasına önemli derecede etki sağlayacaktır. Bu çalışmada pandemi ile önemli bir artış gözlenen koyunculuğa ve yetiştiricilerin koyunculuğu tercih etme nedenlerine değinilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Koyun, Ardahan, Pandemi

**ABSTRACT**

The pandemic, which has affected the world and Turkey with it, has triggered the desire of people to get away from crowded environments. Accordingly, the fear of living and the overload on food have created a constant desire for shopping in people. Those who are afraid of going to the market have increased the rate of online shopping. In addition, many people have adopted the idea of organic life and returning to the village as a way to reach food faster. The fact that our country and our region are prone to agriculture and animal husbandry has become an important reason for people to return to the village. However, the fact that our country is very suitable for sheep breeding in terms of animal husbandry within the scope of geographical location and climatic conditions and the existence of some incentive projects carried out throughout Turkey contributed to the improvement of the existing perspective towards the village

and animal husbandry. Within these projects, the "I have many reasons to live in my village" project, which is very interesting in our region as it is in many parts of Turkey, carried out by the Ministry of Agriculture and Forestry, has made an important contribution to the interest of breeders and other people who are interested in animal husbandry in sheep breeding. caused an increase. Apart from the pandemic and projects, there are many reasons why those who were dealing with sheep breeding before the pandemic, as well as those who met with the village and livestock, especially sheep breeding, prefer sheep breeding. Among these reasons, sheep are easily obtained, their care and feeding conditions are suitable for our country and especially for our region, they are less expensive compared to cattle breeding, they are evaluated on the basis of herd and they are cheap and cost-effective. The most important advantage of evaluating sheep on the basis of herd is that the losses are tolerable. It is very important to make the care and shelter conditions suitable for sheep breeding, to choose the right caregiver, to choose protection and control programs rather than treatment in diseases, and to be in constant communication with veterinarians. This will have a significant impact on both the better income of the breeders and the development of the people of the region economically. In this study, sheep breeding, which has increased significantly with the pandemic, and the reasons why breeders prefer sheep breeding are mentioned.

**Keywords:** Sheep, Ardahan, Pandemic

## GİRİŞ

Pandemi sürecinde insanlarda oluşan kaygı ve yaşama korkusu, köye ve organik yaşama dönüşte etkin bir sebep halini almaya başlamakta, bu da tarım ve hayvancılığa zorunlu ve farklı bir dönüş yaşanmasına neden olmaktadır. Bu sebeplerden dolayı insanların bu süreçte beslenme ihtiyaçlarını karşılamada koyun üretiminin büyükbaş üretimine oranla daha masrafsız ve kolay olması bunun yanı sıra Türkiye genelinde il ve ilçelerinde küçükbaş hayvancılığın geliştirilmesi amacıyla uygulanacak olan "Köyümde Yaşamak İçin Bir Sürü Nedenim Var" projesi de çiftçilerin ilgisini çekmeye başlamıştır. Koyun yoğunluğunun belli ve kısa bir süreçte artmasına bağlı olarak anamnez, klinik bulgular, sürü takibi ve uygun tedavi seçeneklerinin yanında koruma ve kontrol önlemleri koyunculuk açısından oldukça önem taşımaktadır. (2, 5, 6)

## GELİŞME

Türkiye'de yapılabilecek en ucuz maliyetli hayvancılık sektörü koyun yetiştiriciliğidir. Çünkü ülke, koyun yetiştiriciliğine uygun coğrafi konum ve iklim şartlarına sahiptir. (1, 4) Ardahan da halkın geçim kaynağı tarım ve hayvancılıktır. İlin iklim koşulları ve toprak yapısı bitkisel üretimin gelişimi üzerinde etkilidir. Bu sebeple asıl yoğunluk hayvancılıktadır. Hayvancılığın gelişmesinde ki ana kaynaktan bir tanesi çayır ve mera alanlarının bitki çeşitliliği yönünden oldukça zengin olmasıdır. Bitkisel olarak üretilen tahılların hasadından sonra da tarla, çayır alanlarının ve az engebeli olan orman arazilerinin de hayvan besleme de kullanılması mera hayvancılığını ön plana çıkarmıştır. Çayır ve mera alanlarının yaygın olması hayvancılık açısından önem arz etmektedir. Geniş yayla alanlarının bulunması da hayvancılık açısından avantaj sayılmaktadır. Ardahan'da küçükbaş hayvancılık temelde koyun yetiştiriciliğidir. En fazla beslenen koyun türleri akkaraman, morkaraman, hemşin ve tuj'dur. Bu ırkların yanı sıra akkaraman melezi, morkaraman melezi, Hemşin melezi, tuj melezi gibi melez ırklarda yer almaktadır. (2, 5)

### Ardahan İlinin Hayvan Yetiştiriciliği Açısından Yeterli Yönleri

- 1- Geniş ve verimi yüksek olan mera alanlarının var olması
- 2- Yetiştiricilerin genel olarak mera hayvancılığına yönelmesi
- 3- Merkez ilçeler ve köylerinde yayla kültürünün gelişmiş olması
- 4- Tarım alanlarında ve ekimlerde kimyasal gübre yerine kendi hayvanlarından elde ettikleri doğal gübreyi kullanılıyor olması
- 5- Ekim yapılan tarım arazilerinde hayvanlar için daha besleyici olan yem bitkilerinin üretiliyor olması



- 6- Ardahan Üniversitesi'nin il de varlığını sürdürüyor olması
- 7- Bölgesel olarak yatırım projelerinin destekleniyor olması
- 8- Zengin bir flora ya sahip olması
- 9- Hayvan yetiştiricilerinin aile bireyleriyle yürütülmesiyle ucuz iş gücü elde edilmesi (2, 3, 5)

#### Ardahan İlinin Hayvan Yetiştiriciliği Açısından Yetersiz Yönleri

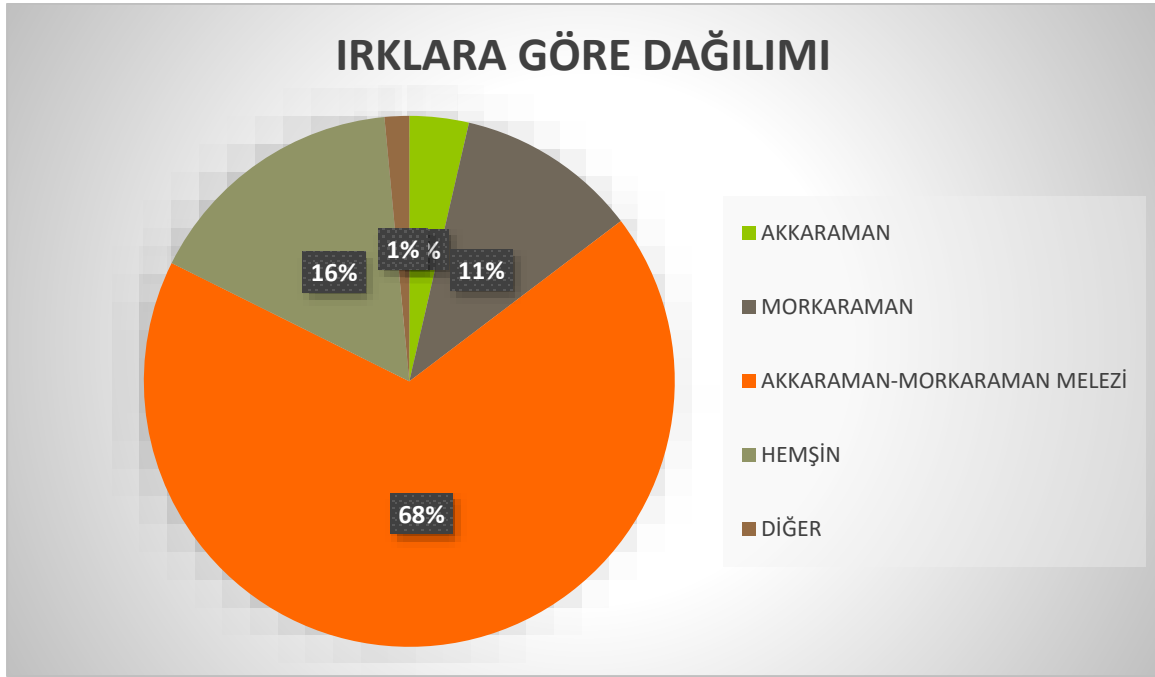
- 1- Yetiştiricilerin koyun yetiştiriciliğinde ve yaylacılıkta kullandıkları barınakların uygun olmaması
- 2- Var olan işletmelerde aile bireylerinin çalışıyor olması
- 3- Ardahan ilinin tüketim merkezlerine uzaklığının olması
- 4- Yetiştiricilerin üretmiş olduğu ürünlerin pazarlama da yeteri kadar yer bulamıyor olması
- 5- İşletmelerde kayıtlanma verilerinin uygun yapıyor olmaması
- 6- Ardahan ilinin iklim şartlarının zorlu olmasına bağlı olarak kışın etkin bir üretim yapılamaması (2, 3, 6)

Grafik 1: Ardahan İlinin Hayvan Varlığı (7)

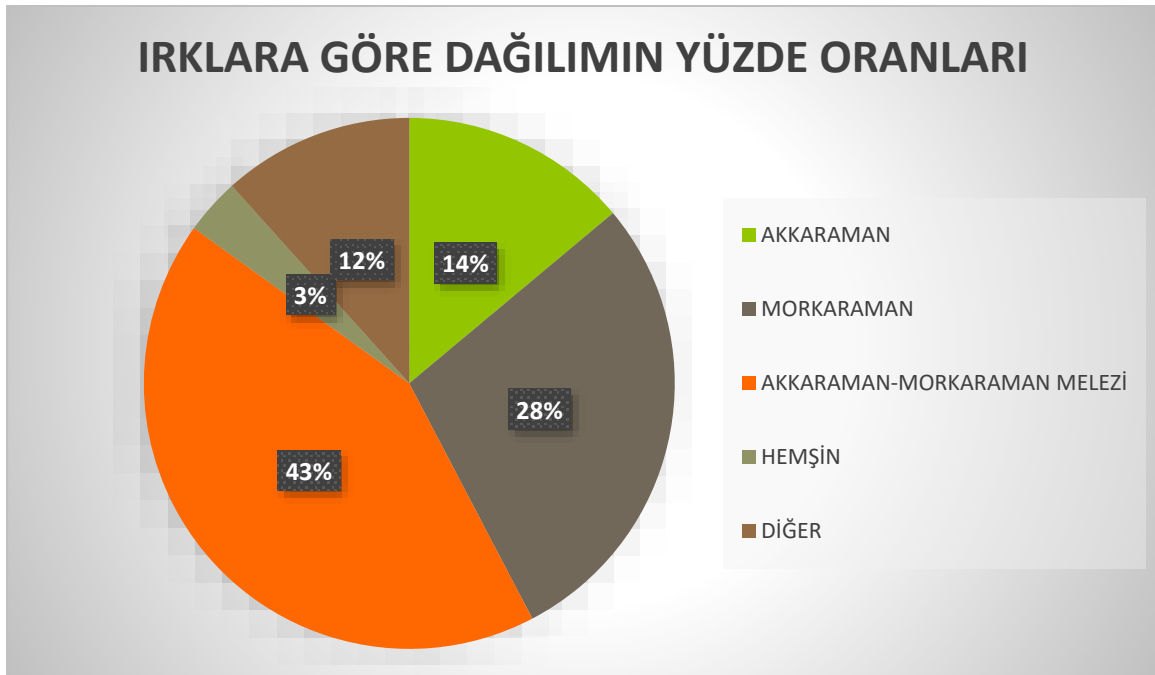
HAYVAN VARLIĞI (Baş)						
Cins	Tür	Hayvan Ad	2002	2020	2021	
Arı Kovanı	Arı Kovanı	Arı Kovanı	18.789	33.156	33.932	
Büyükbaş	Manda	Manda	64	17	30	
	Siğir	Kültür	11.514	15.736	13.145	
		Melez	131.265	299.876	314.366	
		Yerli (Siğir)	106.441	14.606	3.927	
Siğir Toplam			249.220	330.218	331.438	
Büyükbaş Toplam			249.284	330.235	331.468	
Kanatlı	Hindi	Hindi	16.715	12.824	13.914	
	Kaz	Kaz	180.997	76.947	133.157	
	Ördek	Ördek	2.842	2.603	5.366	
	Tavuk	Et		0	0	
		Yumurta	128.480	135.870	142.616	
Tavuk Toplam			128.480	135.870	142.616	
Kanatlı Toplam			329.034	228.244	295.053	
Küçükbaş	Keçi	Kıl	922	3.857	4.952	
		Tiftik		184	12	
	Keçi Toplam			922	4.041	4.964
	Koyun	Merinos		149	500	
		Yerli (Koyun)	36.581	90.617	113.063	
Koyun Toplam			36.581	90.766	113.563	
Küçükbaş Toplam			37.503	94.807	118.527	

Kaynak: TÜİK

Grafik 2: Koyun varlığının ırklara göre dağılımı (2)



Grafik 3: Koyun ırklarının yüzde oranları (2)



Grafik4: İlçelere Göre Koyun Sayıları (2)



## SONUÇ

Ardahan ili gerek iklim koşulları gerekse toprak yapısı ve doğal bitki çeşitliliği açısından hayvancılık için önemli bir yerleşim alanıdır. Pandeminin getirmiş olduğu stres ve yaşama korkusu insanlarda farklı alanlara yönelme arzusuna neden olmuştur. Giriş kısmında da belirttiğimiz üzere proje desteklerinin ve hibe programlarının varlığıyla Türkiye genelinde olduğu gibi Ardahan'da da köye dönüş ve hayvancılığa olan ilgi de artış gözlenmiştir. Büyükbaş hayvancılığa nazaran küçükbaş hayvancılığın daha kolay yapılabilir olması, ekonomik olması, sürü bazında değerlendiriliyor olması, koyunun kolay elde edilebilir olması, bakım ve beslenme şartlarının ülkemiz ve özellikle de bölgemize uygun olması ile ucuz ve maliyeti düşük olması koyun yetiştiriciliğinin tercih edilmesindeki sebeplerdendir. Koyunların sürü bazında değerlendirilmesinde en önemli avantajı kayıpların tolere edilebilir düzeyde olmasıdır. Koyun yetiştiriciliğinde bakım ve barınma şartlarının uygun hale getirilmesi, doğru bakıcı seçilmesi, hastalıklarda tedavi değil de koruma ve kontrol programlarının tercihi ve veteriner hekimlerle sürekli iletişim halinde olunması oldukça önem arz etmektedir. Bu da ekonomik olarak hem yetiştiricilerin daha iyi kazanç sağlamasına hem de bölge halkının kalkınmasına önemli derecede etki sağlayacağı öngörülmektedir.

Sonuç olarak;

1. Koyunların sürü bazında değil de bireysel olarak değerlendirilmesi
2. Ahır şartlarının düzenlenmesi
3. Mera ve çayır alanlarının düzenli ve aralıklı olarak kullanılması
4. Bakıcıların işini iyi yapması
5. Veteriner hekim ile iletişimde olunması
6. Yetiştiricilerin bilinçli olması
7. KONTROL

Uygulamalarının doğru yapılması hem koyun yetiştiricilerinin hem de Ardahan' da koyunculüğün sürekliliği açısından oldukça önemli olduğunu düşünmekteyiz.

## KAYNAKLAR

1. Alkan, F., Koyunlarda ayak hastalıkları ve genel yaklaşım. 3. Koyun-Keçi Sağlığı ve Yönetimi Kongresi, 23-32, Bursa, 2017.
2. Ardahan İl Tarım ve Orman Müdürlüğü, 2022
3. Aygün G., Akbulak C., Ardahan İli Organik Hayvancılık Potansiyelinin Değerlendirilmesi, Dumlupınar Üniversitesi Sosyal Bilimler Dergisi 53. Sayı / Temmuz 2017
4. Kılıç A., Eştürk Ö., Albayrak N., Altay Ş., Ardahan İli Büyükbaş Hayvancılık Sektörünün Yapısal Özellikleri Ve Pazarlama Kanalları Üzerine Bir Araştırma, 2019
5. T.C. Tarım Ve Orman Bakanlığı Strateji Geliştirme Başkanlığı Tarımsal Yatırımcı Danışma Ofisi, Ardahan Tarımsal Yatırım Rehberi, 2022
6. <https://ardahan.serka.gov.tr/sektorler/tarim-ve-hayvancilik>, 23.02.2023, 16:30
7. <https://www.tuik.gov.tr>, 2022

**MACAR FİĞ-YULAF HASILI İÇEREN KABA YEM KARIŞIMININ NİSPİ YEM DEĞERİNİN VE *İN VİTRO* GERÇEK SİNDİRİLEBİLİRLİĞİNİN BELİRLENMESİ**  
**DETERMINATION OF RELATIVE FEED VALUE AND *İN VİTRO* TRUE DIGESTIBILITY OF HUNGARIAN VETCH-OAT MIXTURE**

**Zeki KILIN<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye,*

<sup>1</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6178-9151>*

**Zehra SELÇUK<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>*Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye*

<sup>2</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6060-4514>*

**ÖZET**

Macar fiğ serin ve kurak koşullara adapte, verim ve kalitesi yüksek olan bir yem bitkisidir. Bununla beraber zayıf gövde yapısı yatmasına sebep olur. Bu nedenle tek yıllık tahıl türleri ile karışım halinde yetiştirilmesi önerilmektedir. Nispi yem değeri, baklagil/buğdaygil otlarının ve silajların kalitelerinin ifade edilmesinde yıllardır kullanılmaktadır. Nispi yem değerinin hesaplanmasında asit deterjan fiber ve nötral deterjan fiber değerlerinden yararlanılmaktadır. Nötral deterjan fiber değeri kullanılarak hayvanın canlı ağırlığına bağlı olarak tüketebileceği kuru madde miktarı, asit deterjan fiber değeri kullanılarak sindirilebilir kuru madde düzeyi hesaplanır. Tam çiçeklenme dönemindeki yonca için nispi yem değeri 100 kabul edilmekte ve kaba yemin nispi yem değeri bu değer altına düştükçe kalitesi de düşmektedir. Yapılan bu çalışmanın amacı Macar fiğ-yulaf karışım hasılına (%75 Macar fiğ tohumu-%25 yulaf tohumu olacak şekilde ekimi yapılmış) nispi yem değerinin ve *in vitro* gerçek sindirilebilirliğinin belirlenmesidir. Macar fiğ-yulaf karışım hasılı Macar fiğinin çiçeklenme başlangıcında biçildi. Biçim sonrasında asit deterjan fiber ve nötral deterjan fiber içerikleri Ankom<sup>200/220</sup> Fiber Analyzer cihazı, *in vitro* gerçek sindirilebilirlik değeri ise Ankom Daisy<sup>II</sup> İnkübatör kullanılarak belirlendi. Macar fiğ-yulaf karışım hasılına kuru madde tüketimi %2,46, sindirilebilir kuru madde miktarı %65,33 ve nispi yem değeri 124,55 olarak hesaplandı ve *in vitro* gerçek sindirilebilirliği %74,09 olarak bulundu. Sonuç olarak, %75 Macar fiğ ve %25 yulaf içeren karışım hasılına nispi yem değeri ve *in vitro* gerçek sindirilebilirlik değeri göz önüne alındığında ruminant beslemede önemli bir potansiyele sahip olduğu söylenebilir.

**Anahtar kelimeler:** Macar fiğ-yulaf karışımı, nispi yem değeri, *in vitro* gerçek sindirilebilirlik

**ABSTRACT**

Hungarian vetch, which is a forage crop that is adapted to cool-season and arid conditions, has a high yield and quality. However, its weak stem structure causes lying down of it. Therefore, it is recommended to be grown in a mixture with one-year cereals. Relative feed value has been used for years to express the quality of legumes/grain grasses and silages. Acid detergent fiber and neutral detergent fiber values are used to calculate the relative feed value. The amount of dry matter that the animal can consume depending on its live weight is calculated by using the neutral detergent fiber value, and the digestible dry matter level is calculated by using the acid detergent fiber value. For alfalfa in full bloom, the relative feed value is accepted as 100, and as the relative feed value of the roughage falls below this value, its quality decreases. The aim of this study was to determine the relative feed value and *in vitro* true digestibility of the Hungarian vetch-oat mixture (planted as 75% Hungarian vetch seed-25% oat seed). Hungarian vetch-oat mixture was harvested at the beginning of the flowering of

Hungarian vetch. After harvest, acid detergent fiber and neutral detergent fiber contents were determined using Ankom Fiber Analyzer, and *in vitro* true digestibility values were determined using Ankom Daisy Incubator. Dry matter consumption, dry matter digestibility and relative feed value of the Hungarian vetch-oat mixture were calculated as 2.46%, 65.33% and 124.55, respectively, and *in vitro* true digestibility was found as 74.09%. As a result, it can be said that the mixture containing 75% Hungarian vetch and 25% oat has an important potential in ruminant nutrition, considering the relative feed value and *in vitro* true digestibility value.

**Keywords:** Hungarian vetch-oat mixture, relative feed value, *in vitro* true digestibility

## 1. GİRİŞ

Ruminant midesi rumen, retikulum, omasum (proventrikulum) ve abomasum (gerçek mide) olmak üzere dört kompartımanlı bir yapıya sahiptir. Özellikle retikulo-rumendeki mikroorganizma popülasyonunun aktivitesi ile  $\beta$ -glikozidik bağlantıların parçalanmasıyla ham selüloz sindirimi, protein niteliğinde olmayan azotlu bileşiklerden mikrobiyel protein sentezi, K ve B grubu vitaminlerin sentezi gerçekleşir. Sindirim sistemindeki bu anatomik ve fonksiyonel özelliklerle nedeniyle ruminantlar besin madde ve enerji ihtiyaçlarının önemli bir kısmını mutlak yem niteliğindeki kaba yemlerden karşılayabilirler. Kaba yemler, birim hacminde sindirilebilir besin madde yoğunluğu az, kuru madde bazında %18 ve üzerinde ham selüloz içeriğine sahip olan yemlerdir (Kellems and Church, 2002). Kaba yemler özellikle rumen ekosistemi için gerek fiziksel formları ve gerekse besin madde içerikleri açısından önem taşır. Ruminant beslemede yaşama ve verim payı besin madde ve enerji ihtiyaçlarının karşılanması amacıyla rasyonlar kaba ve konsantre yem kaynakları kullanılarak hazırlanır. Çiftlik hayvanlarının beslenmesinde kullanılan kaba yem kaynakları arasında çayır-meralar, kültürü yapılan yem bitkileri ve tarımsal artıklar yer almaktadır (Ergün vd, 2016).

Yem bitkileri üretimi hayvansal üretimde iyi kaliteli kaba yem temini için önem taşır. Yem bitkilerinin büyük bir kısmı baklagil ve buğdaygil familyasına aittir. Kaba yemlerin rumendeki fermentasyonu ve parçalanabilirliği asit deterjan fiber (ADF) ve nötral deterjan fiber (NDF) içeriklerine bağlı olarak değişmektedir (Van Soest, 1994). NDF, bitki hücre duvarındaki hemiselüloz, selüloz ve lignin miktarını, ADF ise selüloz ve lignin miktarını ifade eder. NDF değeri, hayvanın 24 saatte ne kadar yem tüketebileceğinin bir göstergesidir (Ward, 2008). Bir yemin ADF değeri ne kadar yüksekse sindirim oranı o kadar düşük olmaktadır. NDF değeri kullanılarak hayvanın canlı ağırlığına bağlı olarak tüketebileceği kuru madde miktarı, ADF değeri kullanılarak ise kaba yemin sindirilebilir kuru madde oranı hesaplanır (Van Dyke and Anderson, 2000).

Nispi yem değeri (NYD), baklagil/buğdaygil otlarının ve silajların kalitelerinin ifade edilmesinde yıllardır kullanılmaktadır. Tam çiçeklenme dönemindeki yoncanın (%41 ADF ve %53 NDF içeriğine sahip) NYD 100 kabul edilmektedir. NYD >100 olan kaba yem, tam çiçekli yoncaya göre inek tarafından daha fazla sindirilebilir kuru madde tüketimi anlamına gelmektedir (Jeranyama and Garcia, 2004). Yapılan bu çalışmanın amacı Macar fiğ-yulaf karışımının NYD'nin ve *in vitro* gerçek sindirilebilirliği (İVGS)'nin belirlenmesidir.

## 2. MATERYAL VE METOT

### Yem Materyali

Çalışmada Asarcık/Samsun/Türkiye'de beraber yetiştirilen Macar fiğ-yulaf hasılı karışımı (%75 Macar fiğ tohumu-%25 yulaf tohumu olacak şekilde ekimi yapılmış, ekim sırasında 20-20-0-NP azot kompozit gübre uygulanmış) kullanıldı. Karışımında Macar fiğinin Kansur çeşidi ile yulafın yörede ekilen yerel bir çeşidi yer aldı. Macar fiğ-yulaf hasılı karışımı Macar fiğinin çiçeklenme başlangıcında biçildi.

### Kimyasal Analiz

Biçilen taze kaba yem örneği 65 °C'de 48 saat kurutuldu ve analizler için öğütüldü. Öğütülen yem materyalinin kuru madde içeriği hava sirkülasyonlu etüvde (Mettler UNE 400, Germany) 105 °C'de 12 saat tutulması sonrasında hesaplandı. ADF ve NDF içerikleri Ankom<sup>200/220</sup> Fiber Analyzer cihazı (Ankom Technology Corporation, Fairport, NY, USA) kullanılarak belirlendi.

### Nispi Yem Değerinin Hesaplanması

Macar fiğ-yulaf karışım hasılının NYD'nin hesaplanmasında aşağıda verilen eşitlikler kullanıldı. ADF değerinden sindirilebilir kuru madde (%SKM) miktarı, NDF değerinden ise kuru madde tüketim (%KMT) miktarı hesaplandı. NYD, SKM ve KMT değerlerinin formülde yerine konulmasıyla hesaplandı (Van Dyke and Anderson 2000).

$$\%SKM = 88,9 - (0,779 \times \%ADF)$$

$$\%KMT = 120/\%NDF$$

$$NYD = \%SKM \times \%KMT \times 0,775$$

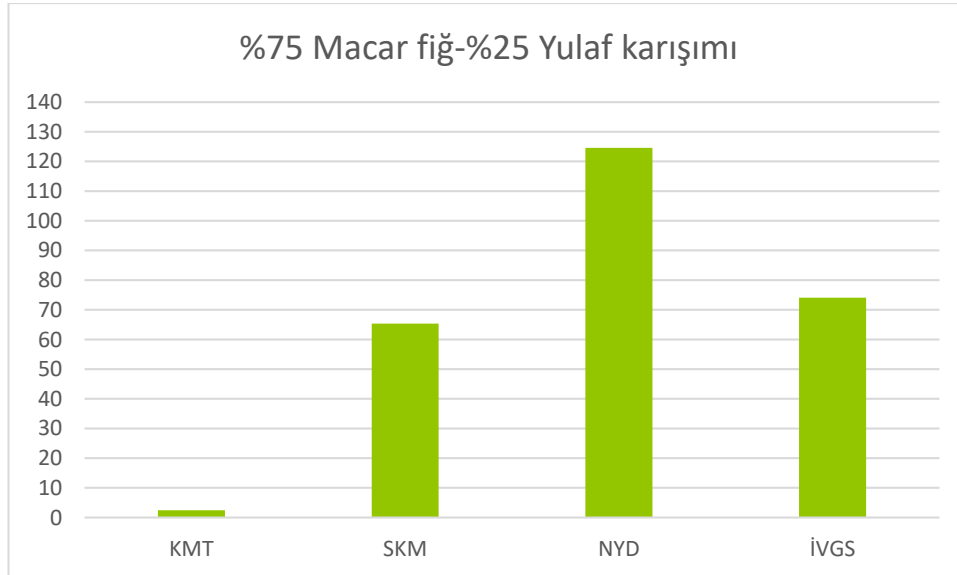
### *In vitro* gerçek sindirilebilirlik tespiti

Çalışmada İVGS değerinin belirlenmesi amacıyla Ankom Daisy<sup>II</sup> inkubatör (Ankom Technology Corporation, Fairport, NY, USA) kullanıldı. Araştırmada mezbahada kesilen erişkin sığırlardan kesimin hemen sonrasında önceden 39 °C'ye getirilmiş ve CO<sub>2</sub> eklenmiş termosaya alınan rumen içeriği önceden 39 °C'ye getirilmiş ve CO<sub>2</sub> eklenmiş erlene dört katlı tülbent bezden süzülde. İnkübasyon için rumen sıvısı, tampon A ve B karışımı inkübatorün çalışma prosedüründe belirtildiği şekilde sindirim ünitelerine yerleştirildi. Daraları alınan (W1) F57 torbaları içerisine tartılan yem örnekleri (W2) Ankom Daisy<sup>II</sup> inkubatörde anaerob ortamda 48 saat inkübasyona bırakıldı. Düzeltme faktörü için boş torba (C1) kullanıldı. İnkübasyon sonrası sindirim ünitelerinden alınan torbalar tamamen temizleninceye kadar akan çeşme suyu altında yıkandı ve Ankom<sup>200/220</sup> Fiber Analyzer cihazı (Ankom Technology Corporation, Fairport, NY, USA) cihazına yerleştirildi. NDF prosedürü uygulandıktan sonra torbalar 105 °C'de kurutuldu. Desikatörde oda sıcaklığına gelen torbalar tartıldı (W3). İVGS değeri aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.

$$\%İVGS = 100 - \left( \frac{W3 - (W1 \times C1)}{W2} \right) \times 100$$

### 3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Macar fiğ-yulaf karışım hasılının KMT %2,46, SKM miktarı %65,33 ve nispi yem değeri 124,55 olarak hesaplandı ve İVGS değeri %74,09 olarak bulundu (Şekil 1).



**Şekil 1.** Macar fiğ-yulaf karışımının kuru madde tüketimi (KMT,%), sindirilebilir kuru madde miktarı (SKM,%), nispi yem değeri (NYD) ve *in vitro* gerçek sindirilebilirlik (İVGS,%) değeri

Tam çiçek dönemindeki yoncanın NYD'nin 100 olarak kabul edilmesi sonucu başlangıç olarak belirtilen kalite sınıfı (en iyi) NYD ≥151, birinci kalite 151-125, ikinci kalite 124-103, üçüncü kalite 102-87, dördüncü kalite 86-75 ve beşinci kalite <75 olarak bildirilmektedir (Rivera and Parish, 2010). Bu çalışmadan elde edilen NYD ikinci kalite standartını karşılamaktadır. Gökdemir (2019) tarafından

Bingöl koşullarında tüylü fiğ-çavdar karışım oranlarının ot verimi ve kalitesine etkisinin incelendiği araştırmada %80 tüylü fiği-%20 çavdar karışımının SKM, KMT ve NYD sırasıyla %51,4; 1,92 ve 76,8 olarak bulunmuştur. Seydoşoğlu ve ark. (2020) tarafından 2018 ve 2019 yıllarını içerecek şekilde yapılan bir diğer çalışmada %80 tüylü fiğ-%20 arpa karışımının SKM, KMT ve NYD ise ortalama sırasıyla %61,53; 2,64 ve 125,86 olarak bildirilmiştir. Macar fiğ-tahıl karışımları üzerine yapılan çalışmalarda NYD'nin 106-180 (Aksoy ve Nursoy, 2010), 122,4-149,9 (Temel vd, 2015) ve 99,0-129,00 (Yılmaz vd, 2015) arasında değiştiği ifade edilmektedir. Aksoy ve Nursoy (2010) tarafından yapılan bir çalışmada %50 macar fiğ-%50 buğday karışımlarının *in vitro* kuru madde sindirilebilirliklerinin %57,37 ile 70,48 arasında değiştiği bildirilmektedir. Yapılan bu çalışmada %75 macar fiğ-%25 yulaf karışımının NYD ve İVGS değerleri daha önceki çalışmaların sonuçları ile uyum göstermektedir.

#### 4. SONUÇ

Kaba yemlerin NYD ve sindirilebilirlikleri yem bitkisinin türü, toprak yapısı, iklim koşulları, vejetasyon dönemi gibi birçok faktöre bağlı olarak değişmektedir. Yapılan bu çalışmada Asarcık/Samsun koşullarında %75 Macar fiğ-%25 yulaf tohumu olacak şekilde birlikte yetiştirilen karışımın Macar fiğinin çiçeklenme başlangıcında biçiminin yapılmasıyla ruminant besleme için iyi kaliteli bir kaba yem kaynağı olabileceği sonucuna varılmıştır.

#### Teşekkür

Bu çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO.VET.1904.21.015 proje numarası ile desteklenmiştir.

#### 5. KAYNAKLAR

Aksoy, İ., & Nursoy, H. (2010). Vejetasyonun farklı dönemlerinde biçilen macar fiğ buğday karışımının besin madde kompozisyonu, rumende yıkılım özellikleri *in vitro* sindirilebilirlik ve rölatif yem değerinin belirlenmesi. Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg, 16(6), 925-931.

Ergün, A., Tuncer, Ş.D., Çolpan, İ., Yalçın, S., Yıldız, G., Küçükersan, M.K., Küçükersan, S., Şehu, A., Saçaklı, P. (2016). Yemler, yem hijyeni ve teknolojisi. 6. Baskı, Kardeleen ofset matbaacılık tanıtım hizmetleri san. Ltd., Şti., Ankara.

Gökdemir, N. (2019). Bingöl koşullarında tüylü fiğ (*Vicia villosa* Roth.) ve çavdar (*Secale cereale* L.) karışım oranlarının ot verimi ve kalitesine etkisi (Doctoral dissertation, Yüksek Lisans Tezi. Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Bingöl).

Jeranyama, P., & Garcia, A. D. (2004). Understanding relative feed value (RFV) and relative forage quality (RFQ). Extension Extra, paper 352. [http://openprairie.sdstate.edu/extension\\_extra/352](http://openprairie.sdstate.edu/extension_extra/352).

Kellems, R. O. and Church, D. C. (2002). Livestock feeds and feeding: Prentice Hall Upper Saddle River, NJ.

Rivera, J. D., & Parish, J. A. (2010). Interpreting forage and feed analysis reports. Erişim: <https://extension.msstate.edu/sites/default/files/publications/publications/p2620.pdf>.

Seydoşoğlu S, Turan N, Oluk CA (2020). Bazı baklagil yem bitkileri ile arpa karışım oranları belirlenerek yem verimi ve kalitesine etkisinin araştırılması. Akademik Ziraat Dergisi 9(2): 289-296.

Temel, S., Keskin, B., Yıldız, V., & Kır, A. E. (2015). Iğdır ovası taban koşullarında adi fiğ (*Vicia sativa* L.) çeşitlerinin kuru ot verimi ve kalite özelliklerinin incelenmesi.

Van Dyke, N. J., and P. M. Anderson. "Interpreting a forage analysis." Circular ANR (USA) (1994).

Van Soest, P. J. (2018). Nutritional ecology of the ruminant. Cornell university press.

Yılmaz, Ş., Özel, A., Atak, M., & Erayman, M. (2015). Effects of seeding rates on competition indices of barley and vetch intercropping systems in the Eastern Mediterranean. Turkish journal of agriculture and forestry, 39(1), 135-143.

Ward, R., & Ondarza, M. B. (2008). Relative feed value (RFV) vs. relative forage quality (RFQ). Cumberland Valley Analytical Services. Inc., Hagerstown. MD. available on-line at: [http://www.foragelab.com/Media/RFV\\_vs\\_RFQ-CVAS, 20](http://www.foragelab.com/Media/RFV_vs_RFQ-CVAS, 20).



**GEBE KOYUNLAR VE FÖTUSLARINDA PESTİVİRUS ENFEKSİYONU: GEÇMİŞ  
VERİLERE BİR BAKIŞ VE GÜNCEL LİTERATÜRLE KARŞILAŞTIRILMASI**  
**PESTIVIRUS INFECTION IN PREGNANT SHEEP AND THEIR FOETUSES: AN  
OVERVIEW OF PAST DATA AND COMPARISON WITH CURRENT LITERATURE**

*Can ÇOKÇALIŞKAN*

*Dr. T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Şap Enstitüsü Ankara, Türkiye.*

*ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-3839-0986>*

**ÖZET**

Pestiviruslar, çiftlik hayvanlarında çok çeşitli enfeksiyonlara neden olabilen, ekonomik yönden önemli hastalık etkenleridir. Konak spesifik olmamaları nedeniyle Bovine Viral Diyar ve Border Disease Virus enfeksiyonları koyunlarda görülebilmektedir. Bu çalışmada sağlıklı görünümü gebe koyunların fötuslarında, pestivirus enfeksiyonunun varlığı araştırıldı. 1999-2000 yıllarında, Ankara ve çevresindeki mezbahalara getirilen 100 gebe koyuna ait 108 fötüs toplandı. Bu koyunlara ait 75 serum örneğinin 31'i (% 41,3) pestiviruslara karşı seropozitif olarak belirlenirken fötuslardan alınan 65 serumun tamamı seronegatif olarak tespit edildi. Virüs izolasyonu amacıyla toplam 584 farklı fötal organ ve kan örneği fötal kuzu böbrek hücre kültüründeki 3 kör pasajı takiben direkt immunoplak teste alındı. Tahmini yaşı 69 gün olan bir fötusun çeşitli organlarında (karaciğer, beyin, böbrek, barsak ve akciğer) ve lökosit örneğinde, ayrıca, annesinin kotiledon ve amniyon örneklerinde, sitopatojen olmayan pestivirus tespit edildi. Bu sonuçlara göre, orta-erken gebelik döneminde virüsün anneden fötusa plasenta yoluyla geçtiği ve bu enfeksiyon sırasında fötal immun sistemin tam olarak gelişmemiş olması sebebiyle fötusta persiste bir enfeksiyonun oluştuğu düşünülmüştür. Veriler güncel literatürdeki serolojik verilerle karşılaştırıldığında, geçmişten bugüne Türkiye'de pestivirus enfeksiyonlarının, gerek koyun gerekse sığırlarda, değişik prevalans oranlarında varlığının sürdüğü gösterilmiştir.

**Anahtar Sözcükler:** Koyun, Antikor, Pestivirus enfeksiyonu, Organ Lokalizasyonu, Virüs izolasyonu,

**ABSTRACT**

Pestiviruses are economically important disease agents that can cause a wide variety of infections in farm animals. Bovine Viral Diarrhea and Border Disease Virus infections can be seen in sheep due to absence of host specificity. In this study, the presence of pestivirus infection in fetuses of healthy-appearance pregnant sheep was investigated. In 1999-2000, 108 fetuses were collected from 100 pregnant sheep which were brought to slaughterhouses in and around Ankara. While 31 (41.3%) of 75 serum samples from these sheep were found to be seropositive against pestiviruses, all 65 sera from fetuses were found to be seronegative. For virus isolation, a total of 584 different fetal organs and blood samples were taken for direct immunoperoxidase assay following 3 blind passages in fetal lamb kidney cell culture. A non-cytopathogenic pestivirus was detected in various organs (liver, brain, kidney, intestine and lung) and leukocyte sample of a fetus with an estimated age of 69 days, as well as in cotyledon and amnion samples of its dam. According to these results, it was thought that a persistent infection occurred in the fetus via the placenta during the mid-early pregnancy period when the fetal immune system was not fully developed during this infection. When the data are compared with the serological data in the current literature, it has been shown that pestivirus infections continue to exist at different prevalence rates in both sheep and cattle in Turkey from past to present.

**Keywords:** Sheep, Antibody, Pestivirus infection, Organ localization, Virus isolation,

## GİRİŞ

Pestiviruslar, sığırlar, koyunlar ve domuzlarda ekonomik yönden önemli hastalıklara neden olan patojenler arasındadır. Bu hastalıklar arasında Bovine Viral Diyare, Border Disease ve Hog Kolera bulunmaktadır (Moening, 1990). Bu viruslarla enfekte olabilen hayvanlar yukarıda sayılan türlerle sınırlı değildir, pestivirusların 40'tan fazla hayvan türünde enfeksiyon oluşturabildiği tespit edilmiştir (Becher ve ark.,1997). Flaviviridae ailesi içerisinde sınıflandırılan pestiviruslar 45-54 nm boyunda, zarflı ve üzerinde ışınal çıkıntılar bulunduran RNA genoma sahip viruslardır. 12.3 kb uzunlukta olan genom 4000 aminoasitten oluşan bir poliprotein kodlar. Bu protein daha sonrasında yine genom tarafından kodlanan yapısal ve yapısal olmayan proteinlerden oluşan 11 ayrı proteine dönüşür (Tautz ve ark., 1999). Virus sığır, koyun, domuz gibi hayvanlardan köken alan çeşitli hücre kültürlerinde çoğaltılabilmektedir. Bunun dışında bazı hamster, köpek, tavşan ve kedilerden köken alan hücreler virusla enfeksiyona dirençlidir (Bolin ve ark., 1994). Pestivirusların izolasyonunda çoğunlukla primer sığır embriyonik türbinata ve böbrek hücreleri ile (Laamanen ve ark., 1997), koyun koroid pleksus ve sığır embriyonik testis hücre kültürleri kullanılmaktadır (Niemi ve ark., 1982).

Virus genellikle doğrudan temas ile bulaşmaktadır. Akut olarak enfekte hayvanlar yanında persiste enfekte hayvanların bulaşmada özel bir önemi vardır çünkü bu hayvanlar hem sürüdeki diğer hayvanlara hem de vertikal olarak kuzularına enfeksiyonu geçirebilmektedirler (Sawyer ve ark., 1991). Epidemiyolojik olarak önemli diğer bir konu da enfeksiyonun kolaylıkla türler arası geçiş yapabilmesidir. Sığırlardan köken alan pestivirusların koyun fötüslerini enfekte edebildiği ancak domuzlardan köken alan pestivirusların genellikle sadece bu türde sınırlı kaldığı belirlenmiştir (Bruschke ve ark., 1996). Hem sağlıklı görünümü hem de hastalık belirtileri gösteren hayvanlar, salya, idrar ve dışkı ile virüsü saçabilmektedir (Terpstra, 1981).

Koyun ve sığırlardaki patogeneze benzer özellikler göstermektedir (Niemi ve ark., 1982). Yetişkin gebe olmayan koyunlarda genellikle enfeksiyon klinik belirtiler olmaksızın gerçekleşir. Ancak bazen kısa süren bir ateş, burun akıntısı, öksürük ve ishal gelişebilir (Moening ve Liess, 1995). Bazı suşların akut olgularda öldürücülüğü %32'ye kadar çıkabilmektedir (Baginski ve ark., 2000). Pestivirus enfeksiyonunun en önemli etkisi gebe hayvanların enfeksiyonu sonucu ortaya çıkmaktadır. Viremiyi izleyen 10. günden itibaren akut nekrotik bir plasentit oluşabilir. Bazı olgularda plasentitin iyileştiği bazı olgularda ise aborta yol açtığı belirlenmiştir (Nettleton, 1991). Border Disease Virus enfeksiyonunda gebeliğin 16. gününden önce zigot enfeksiyona dirençlidir. 90. günden sonra ise fötüs virüsü ortadan kaldıracaktır. Bu iki dönem arasındaki enfeksiyon sırasında fötüsün etkilenmesi sonucu çeşitli bulgular ortaya çıkabilir (Sawyer ve ar 1991). Koyun fötüslerinde antikör oluşumu gebeliğin ikinci yarısında başlamaktadır. 80. günden önce gerçekleşen enfeksiyon fötüsün ölümüne neden olabilir. Canlı kalanlarda ise virusa tolerans gerçekleşir ve yaşam boyu süren persiste enfeksiyon gerçekleşir (Nettleton, 1991). Fötüsün tiroid bezi enfeksiyonu, tiroid hormonu sekresyonunun bozulmasına, iskelet ve yapağı gelişiminde aksamaya neden olur. Fötüste malformasyonlar en çok, gebeliğin 50-80. günleri arasında gerçekleşen enfeksiyonlar sonucu oluşur (Thür ve ark., 1997). Genellikle non-sitopatojen karakterde olan virusların plasentayı geçip enfeksiyon oluşturabildiği bildirilmişse de, sitopatojen biyotiplerle de enfeksiyon oluşturulabileceği deneysel olarak gösterilmiştir (Hewicker-Trautwein ve ark., 1994). Koyunlarda da sığırlardaki mukozal hastalık benzeri sendromlar şekillenebilmektedir. Burada persiste enfekte immuntolerant bir kuzunun homolog pestivirus ile enfeksiyonu sonucu ölümle sonuçlanan şiddetli bir hastalık tablosu oluşmaktadır (Barlow,1983).

Pestivirus enfeksiyonlarının laboratuvar teşhisi hastalığın patogenezi gibi karmaşıktır. Özellikle çapraz reaksiyonlar teşhisi güçleştirmektedir. Yetişkin hayvanlarda seropozitiflik sadece önceden virusa maruz kalmaları belirtir. Ancak kolostrum öncesi kuzulardan alınan kan örneklerinde virus izolasyonu ve seronegatifliğin birlikte bulunması tolere taşıyıcılık anlamına gelecektir (Barlow, 1983). Buna rağmen hastalığın prevalansının belirlenebilmesi için serolojik testlere gereksinim duyulmaktadır. Serum nötralizasyon ve ELISA testleri bu amaçla kullanılmaktadır (Fenton ve ark., 1991). Pestivirus varlığının belirlenmesinde ise izole lökositlerin duyarlı hücrelerle kültürasyonu ve takiben yapılan immunfloresan ya da immunperoksidaz teknikleri yaygın olarak kullanılmaktadır (Nettleton, 1991). Pestivirusların birbirinden ayırımı için RT-PCR testi uygulanmaktadır (Vilcek ve Paton 2000).

## GEREÇ VE YÖNTEM

**Hücre Kültürü:** Virus izolasyonu amacıyla daha öncesinden pestiviruslar yönünden negatif olduğu test edilmiş Primer Fötal Kuzu Böbrek hücre kültürü ve virus nötralizasyon ve direkt PLA testleri için Madine Darby Bovine Kidney devamlı hücre kültürü kullanıldı.

**Virüsler:** Nötralizasyon testinde BVDV'un sitopatojen referens suşu olan NADL ve direkt PLA testinde ise kontrol virusu olarak non-sitopatojen 0712/Hannover izolatu kullanıldı.

**Hayvanlar:** Ankara çevresindeki Kazan, Kızılcahamam, Sincan (Mısırdalı Kombinasi) ve Kırıkkale mezbahalarına getirilen 100 gebe koyuna ait toplam 108 fötus kullanıldı. Bu koyunlara ait 91 EDTA'lı ve 80 Kaolinli tüp'e kan alındı. Koyunlar numaralandırıldı. Kesimden sonra koyunlardan 92 adedinin tek, 8 adedinin ikiz fötüsa sahip olduğu belirlendi.

**Serumlar:** 75 gebe koyun ve bunlara ait 65 fötusun kan serumları BVD nötralizan antikorları yönünden incelenmek üzere kaolinli tüplere alındı. Koyunlara ait 5 serum bakteriyel kontaminasyon nedeniyle testte kullanılmadı. 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilen serumlar 56 °C'lik su banyosunda 30 dakika tutularak komplement yönünden inaktive edildi. İnaktivasyonun ardından -20 °C'de test edileceye kadar saklandı.

**Virus İzolasyon materyalleri:** 68'i fötüslara ve 91'i koyunlara ait toplam 159 lökosit örneği, 73'ü koyunlara 53'ü fötüslara ait 126 inaktive edilmemiş serum örneği, 106 amniyon sıvısı ve 62 kotiledon örneği virus izolasyonu amacıyla toplandı. Fötüslara ait 32 akciğer, 27 karaciğer, 25 barsak, 11 dalak, 12 beyin, 23 böbrek ve 1 ön mide olmak üzere toplam 584 örnek virus izolasyonu amacıyla saklandı.

**Konjugat:** Bovine Viral Diarrhea Virus'a karşı Hannover Veteriner Yüksek Okulu'nda hazırlanmış olan poliklonal hiperimmün serum horseradish peroksidaz ile işaretlenerek kullanıma hazırlandı. Kullanım öncesinde optimal kullanım dilusyonunu belirlemek amacıyla titrasyon çalışmasına tabi tutuldu.

**Fötusların eldesi ve yaklaşık yaşlarının belirlenmesi:** Kesimden sonra karın boşluğundan uterus ile birlikte alınan fötuslar zaman kaybetmeden laboratuvara ulaştırıldı. Laboratuvarda steril şartlar altında uteruslar açılarak, amniyon sıvıları ve kotiledonlar toplanırken, fötusların alın-anüs arası boyları (mm) ölçüldü ve yaklaşık yaşları Richardson ve ark (1976) tarafından bildirilen yönteme göre hesaplandı.

**Virus Nötralizasyon Testi:** Serumların BVDV'a karşı nötralizan antikor titrelerinin belirlenmesi Liess ve ark. (1974)'nin bildirdiği yöntemle yapıldı. Kısaca; steril hücre kültürü mikropleytlerinde 1:5 sulandırmadan başlayarak Log<sub>2</sub> tabanına göre 6 basamak seri sulandırması yapılan serumların üzerine, 100 DKID<sub>50</sub> oranında sulandırılmış BVDV NADL virusundan eklendi. Serum-virus karışımı bir saat 37 °C'de %5 karbondiyoksitli inkubatörde bekletildi. Süre sonunda DMEM içerisinde 300 000 hücre/ml olacak şekilde Fötal Kuzu Böbrek hücrelerinden serum-virus karışımı üzerine eklendi. Pozitif ve Negatif kontroller hazırlanarak mikropleyt karbondiyoksitli etüvde 5 gün süreyle tutuldu. Süre sonunda karakteristik sitopatolojik etki yönünden incelendi. Virus üremesini %50 oranında durduran serum sulandırma basamakları SN<sub>50</sub> değeri olarak kabul edildi.

**Virus İzolasyon Materyallerinin Hazırlanması:** EDTA'lı tüplere alınan kanlar 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra eritrositlerin üzerinde yer alan beyaz kan hücreleri steril bir pastör pipeti yardımı ile toplanarak PBS ile toplamda 3 defa yıkandı ve kullanılıncaya kadar -80 °C'lik derin dondurucuda saklandı.

**Fötal Organ Örneklerinden Inokulumların Hazırlanması:** Fötuslardan organlar steril koşullarda çıkartılıp kullanılıncaya kadar -20 °C'de saklanmıştır. Inokulum hazırlanacağı zaman homojenizatörde PBS ile 1:10 oranında karıştırılarak dokuların parçalanması sağlandı. Homojenizat 3000 devirde 20 dakika yapılan santrifüj ile klarifiye edildi. Kullanılıncaya kadar -80 °C'lik dondurucularda saklandı.

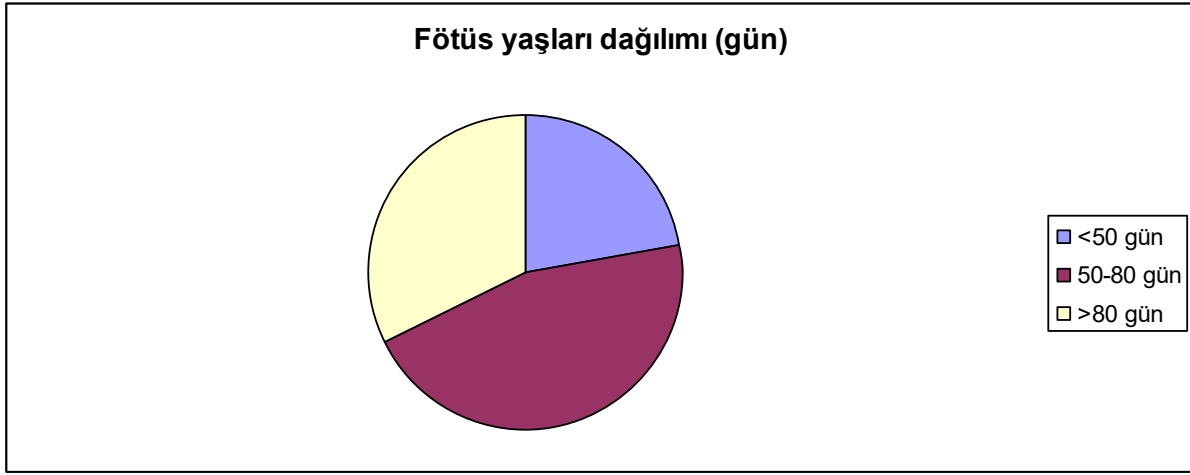
**Hücre kültüründe virus izolasyonu:** Hazırlanan inokulumlar ve lökosit örneklerinden 100'er µl adsorbsiyonlu yöntemle, 15 ml'lik hücre kültürü tüplerinde üretilmiş mililitresinde 150 000 hücre olan ve 1ml hacimdeki FKB hücre kültürlerine ekilerek, 5 gün süre ile virus izolasyonu için inkubasyona bırakıldı. Bu süre içinde %2 FBS içeren DMEM vasat içerisinde standart 37 °C etüv içerisinde tutuldu. Her gün CPE oluşumu yönünden mikroskop altında incelendi.

**Direkt Immunperksidaz Testi:** Test Holm ve Jensen (1981) tarafından bildirilen yönteme göre gerçekleştirildi. Buna göre ml'sinde 85 000 hücre bulunan MDBK hücre süspansiyonundan 24 g zly hücre kültürü pleytlerine 1'er ml konuldu. 24 saat 37  C'de %5 karbondiyoksitli etüvde inkubasyonun ardından FKB hücresinde ilk pasajları yapılan virus izolasyon materyallerinden 100  l adsorbsiyonlu yöntemle ekildi. Pleytler tekrar karbondiyoksitli etüvde inkubasyona bırakıldı 72 saat sürenin ardından 80  C ısı ile sabitlenen hücreler üzerine daha önce belirlenen titre oranında PBS-T20 ile sulandırılan anti-BVDV-HRP konjugat eklendi. Süre sonunda PBS ile yapılan 3 yıkamanın ardından tüm g zlelere sodyum asetat tamponu içerisinde çözdürülmüş, 200  l, 3-amino 9 etil karbazol konuldu. 30 dakika renk reaksiyonunun gelişmesi için beklendikten sonra distile su ile reaksiyon durduruldu ve gözler mikroskop altında sitoplazmik boyanma yönünden incelendi.

## BULGULAR

### Fötusların yaşları

Richardson ve ark. (1976)'nın bildirdiği yönteme göre toplanan fötusların yaşlarının 39 ile 122 gün arasında değiştiği tespit edildi. 50 gün ve daha genç yaşta 24 fötus varken 50-80 gün yaş arası 49 adet ve 80 gün ve daha yukarı yaşta 35 adet fötus olduğu belirlendi (Grafik 1).



**Grafik 1:** Fötusların yaş dağılımı yüzdeleri (Gün)

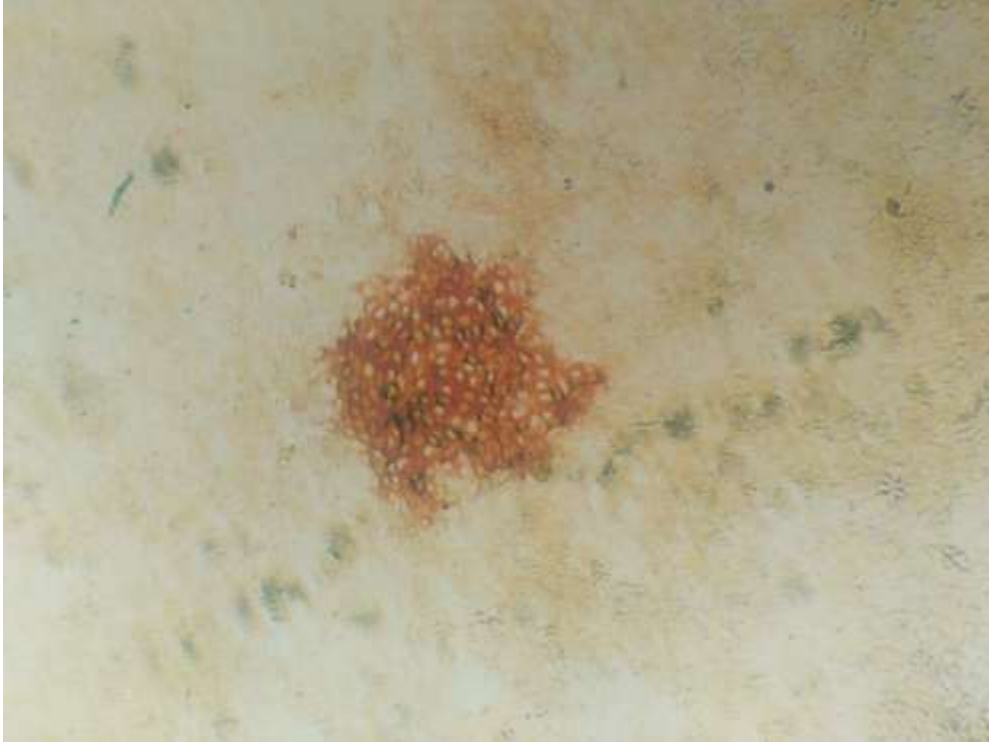
### Virus Nötralizasyon Testi Sonuçları

Toplanan f tuslara ait 65 serum örneğinin hiçbirinde BVDV'a spesifik nötralizan antikora rastlanmamıştır. Koyunlara ait 75 serumun 31'inde farklı titrelerde (1:10- >1:640) virus nötralizan antikorlara rastlandı (%41.33). Pestivirus pozitif olarak belirlenen fötusun annesine ait kan serumunda virus nötralizan antikor titresi 1:80 olarak belirlendi.

### Virus İzolasyonu ve Direkt Immunpreksidaz Testi Sonuçları

Koyunlara ait 91 lökosit, 73 inaktive edilmemiş serum, 106 amniyon sıvısı ve 62 kotiledon örneğinin FKB hücrelerinde yapılan 3 k r pasajı sonunda CPE tespit edilemedi. Benzer biçimde f tuslara ait 68 lökosit, 53 inaktive edilmemiş serum ve 131 farklı organ örneğinden yapılan 3 FKB k r pasajında CPE görüntüsüne rastlanılmadı.

İlk FKB pasajını izleyen DIPT sonucu bir fötusa ait lökosit örneğinde ve bu fötusa ait tüm organ örneklere pestivirus varlığı belirlendi (Fotograf 1). F tusun annesinden elde edilen amniyon ve kotiledon örneklere de BVDV tespit edildi. Annenin lökosit örneğinden ise virus izolasyonu gerçekleştirilemedi.



**Fotograf 1:** Pestivirus pozitif tespit edilen fötusa ait akciğer örneğinden yapılan immunperoksidaz testi görüntüsü

## TARTIŞMA

Pestivirusların koyun fötuslarına çeşitli etkileri bulunmaktadır. Bu etkiler annenin bağışıklık durumuna, gebelik dönemine, virus biyotipine ve virulensine göre değişebilmektedir. Enfeksiyon sonucu fetal ölüm, rezorbsiyon ya da abort meydana gelebilir. Persiste enfekte, immuntolere bireyler doğabildiği gibi, antikör oluşumu ile virusun elimine edildiği sağlıklı bireyler de ortaya çıkabilir. Beyin ve gözlerdeki bozukluklarla seyreden kongenital anomalili ve karışık tüylü (hairy shakers) kuzular pestiviruslar ile enfeksiyonun olağan sonuçlarındandır.

Pestivirusların prevalansı ile ilgili Türkiye’de çok sayıda çalışma gerçekleştirilmiştir. Bunlardan bazıları sığırlardaki pestivirusları ele alırken, bir kısmı da koyunlardaki pestivirusları hedeflemiştir (Burgu ve ark., 1984, Burgu ve ark., 2000, Burgu ve ark., 2001, Gür ve ark., 2009). Burgu ve ark., 1984 yılında yaptıkları çalışmada koyunlarda %21.6 oranında nötralizan antikora rastlamışlardır. Yine Burgu ve ark. 2001 yılında kamuya ait tarım işletmelerinde koyunlarda %25’lik seropozitiflik saptamışlardır. Şimşek ve ark. 1998 yılında Konya bölgesindeki sağlıklı koyunların %36.3’ünün nötralizan antikör titresi taşıdığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmadaki nötralizan antikör taşıyan koyunların oranının yukarıdaki çalışmalarda bulunanlara benzediği söylenebilir. Yavru ve ark. (2014)’nın Konya ilinde koyun fötuslarında Border Disease Virusu yönünden yaptığı benzer bir çalışmada, toplanan 34 fötüs’ün çeşitli organlarına ait 170 örnekten MDBK hücrelerinde virus izolasyonu denenmiştir. Söz konusu çalışmada 3 fötusa ait 3 karaciğer, 3 akciğer ve 2 beyin örneğinde immunperoksidaz boyama ile pestiviral antijen tespit edilmiştir. Böylelikle fötusların % 8,82’sinde virus tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar, sağlıklı görünümlü havyanlarda pestivirus dolaşımının devam ettiğini, araştırmacıların belirttiği şekilde pestiviruslar ile mücadele edilmesi gerektiğini doğrulamaktadır. Tuncer-Göktuna ve ark. (2016), Türkiye’nin batısındaki ruminantlardaki 2007-2015 yılları arasındaki abort vakalarını araştırdıkları çalışmalarında, % 51.85 pestivirusların antijenlerine rastlamışlardır ve pestivirusların bölgede yaygın bir abort etkeni olduğu sonucuna varmışlardır. Benzer olarak, Tuncer Göktuna ve ark. (2017), Marmara bölgesinde atık ve diyare belirtileri gösteren koyun sürüsünün bulunduğu bir çiftlikte yaptıkları çalışmada BVDV-1 ve Border Disease viruslarının her ikisini de tespit etmişlerdir. Bulut ve ark. (2018), Türkiye’deki koyun abortlarının %24,74’ünde pestivirusların varlığını göstermişlerdir. Türkiye’de BVDV-1’in en yaygın pestivirus genotipi olduğunu vurgulamışlardır. Pestivirusların

kontrolünde en etkili yöntemlerden birisi persiste enfekte hayvanların belirlenip sürüden ayrılmasıdır. Koyunların aşılınması konusunda bir program yapılması gerekliliği devam etmektedir.

Çağırğan ve ark. (2022), Türkiye'nin batısında 2017-2020 yılları arasında sığır abortlarından elde edilen materyallerde belirlenen pestivirusların dizi ve filogenetik analizlerini yapmışlar, buna göre, aynı bölgeden biri baskın olmak üzere 3 ayrı alt-tipte kümelenmişlerdir. Örneklerin tamamı non-sitopatik özellik göstermişlerdir.

Türkiye'nin kıyusal ve karasal 11 bölgesinden yapılan koyun örneklemeleriyle gerçekleştirilen bir seroepidemioloji çalışmasında 2444 serumda BVDV'ye karşı virus nötralizasyon testi ile %18.94'lük bir seropozitiflik saptanmıştır. Araştırmacılar kıyı ve iç bölgeleri karşılaştırdıklarında soğuk iç bölgelerin daha yüksek seropozitifliğe sahip olduğunu göstermişlerdir (Okur-Gumusova ve ark. 2006). 2021 yılında Kahramanmaraş, Hatay ve Osmaniye illerinde yapılan keçilerde yapılan bir çalışmada ELISA testi ile antikor varlığı araştırılmış ve incelenen 461 keçinin 77'sinde (%16,7) antikor varlığına rastlanmıştır (Doğan ve ark. 2021).

Farklı çalışmalarda farklı oranlarda virus ve seropozitiflik tespiti, Kaplan ve ark (2022) öne sürdüğü gibi örneklenen çiftlik sayılarındaki ya da çiftlikte örneklenen hayvanların oranındaki değişikliklerden kaynaklandığı gibi, abort sırasındaki gebelik yaşına da bağlı farklılıklar gösterebilmektedir. Bu nedenlerle hastalığın insidensinin artışına ya da azalışına ilişkin bir yargıya varmak güçtür. Koyunlarda yaygın bir aşılama uygulamasının bulunmaması hastalığın kontrolü yönünde önemli bir eksiklik olarak devam etmektedir.

## KAYNAKLAR

Baginski SG, Pevear DC, Seipel M, Sun SC, Benetatos CA, Chunduru SK, Rice CM, Collett MS. Mechanism of action of a pestivirus antiviral compound. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000 Jul 5;97(14):7981-6. doi: 10.1073/pnas.140220397. PMID: 10869440; PMCID: PMC16656.

Barlow RM. Some interactions of virus and maternal/foetal immune mechanisms in border disease of sheep. *Prog Brain Res*. 1983;59:255-68. doi: 10.1016/S0079-6123(08)63870-4. PMID: 6364208.

Becher P, Orlich M, Shannon AD, Horner G, König M, Thiel HJ. Phylogenetic analysis of pestiviruses from domestic and wild ruminants. *J Gen Virol*. 1997 Jun;78 ( Pt 6):1357-66. doi: 10.1099/0022-1317-78-6-1357. PMID: 9191930.

Bolin SR, Ridpath JF, Black J, Macy M, Roblin R. Survey of cell lines in the American Type Culture Collection for bovine viral diarrhoea virus. *J Virol Methods*. 1994 Jul;48(2-3):211-21. doi: 10.1016/0166-0934(94)90120-1. PMID: 7989438.

Bruschke CJ, van Rijn PA, Moormann RJ, van Oirschot JT. Antigenically different pestivirus strains induce congenital infection in sheep: a model for bovine virus diarrhoea virus vaccine efficacy studies. *Vet Microbiol*. 1996 May;50(1-2):33-43. doi: 10.1016/0378-1135(96)00024-7. PMID: 8810006.

Bulut H, Sozdutmaz I, Pestil Z, Abayli H, Sait A and Cevik A, (2018) High prevalence of bovine viral diarrhoea virus-1 in sheep abortion samples with pestivirus infection in turkey. *Pak Vet J*, 38(1): 71-75. <http://dx.doi.org/10.29261/pakvetj/201>.

Burgu I., Akca Y., Alkan F., Ozkul A., Karaoglu T., Dagalp-Bilge S., Oguzoglu C., Yesilbag K. (2001) Koyunlarda doğum öncesi ve sonrası dönemlerde bovine viral diarrhoea (BVD) enfeksiyonunun serolojik, virolojik ve patogenezi yönünden araştırılması. *Türk. J. Vet. Anim. Sci.*, 25, 551-557.

Burgu I., Ozturk F., Akca Y. (1984) Tahirova Devlet Üretim Çiftliği koyunlarında Viral enfeksiyonlar üzerine serolojik araştırmalar. *Ankara Üni. Vet. Fak. Derg.*, 31, 167-179.

Çağırğan AA, Kaplan M, Pekmez K, Van Schalkwyk A, Arslan F, Timurkan MO (2022) The Status of Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) in Western Türkiye: Detection of three subtypes. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*. DOI: 10.9775/kvfd.2022.27881

- Doğan, F. , Ataseven, V. S. & Ergün, Y. (2021). Türkiye’de Doğu Akdeniz İllerindeki Sütçü Keçi İşletmelerinde Pestivirus Enfeksiyonlarının Seroprevalansı . *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi* , 32 (1) , 45-49 . DOI: 10.35864/evmd.895626.
- Fenton A, Sinclair JA, Entrican G, Herring JA, Malloy C, Nettleton PF. A monoclonal antibody capture ELISA to detect antibody to border disease virus in sheep serum. *Vet Microbiol.* 1991 Aug 30;28(4):327-33. doi: 10.1016/0378-1135(91)90067-p. PMID: 1659026.
- Gür S. A (2009) Investigation of border disease virus in sheep in Western Turkey. *Trop Anim Health Prod.* Oct;41(7):1409-12. doi: 10.1007/s11250-009-9328-5. Epub 2009 Mar 17. PMID: 19291417.
- Hewicker-Trautwein M, Liess B, Frey HR, Trautwein G. Virological and pathological findings in sheep fetuses following experimental infection of pregnant ewes with cytopathogenic-bovine-virus diarrhoea virus. *Zentralbl Veterinarmed B.* 1994 Jun;41(4):264-76. doi: 10.1111/j.1439-0450.1994.tb00227.x. PMID: 7839747.
- Kaplan M, Çağırğan AA, Pekmez K, Arslan F, Kalaycı G. (2022) A survey of four important viruses causing abortion in cattle in aegean region. *Eurasian J Vet Sci*, 38, 2, 101-107.
- Laamanen UI, Neuvonen EP, Yliviuhkola EM, Veijalainen PM. Comparison of RT-PCR assay and virus isolation in cell cultures for the detection of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in field samples. *Res Vet Sci.* 1997 Nov-Dec;63(3):199-203. doi: 10.1016/s0034-5288(97)90020-5. PMID: 9491443.
- Liess B, Frey HR, Kittsteiner H, Baumann F, Neumann W. Beobachtungen und Untersuchungen über die "Mucosal Disease" des Rindes--einer immunbiologisch erklärbaren Spätform der BVD-MD-Virusinfektion mit Kriterien einer "slow virus infection"? [Bovine mucosal disease, an immunobiological explainable late stage of BVD-MD virus infection with criteria of a "slow virus infection"]. *Dtsch Tierarztl Wochenschr.* 1974 Oct 15;81(20):481-7. German. PMID: 4608361.
- Moennig V, Liess B. Pathogenesis of intrauterine infections with bovine viral diarrhoea virus. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 1995 Nov;11(3):477-87. doi: 10.1016/s0749-0720(15)30462-x. PMID: 8581858.
- Moening V. Pestiviruses: a review. *Vet Microbiol.* 1990 Jun;23(1-4):35-54. doi: 10.1016/0378-1135(90)90135-i. PMID: 2169680.
- Nettleton PF. *Border Disease of Sheep*. Ed: Martin WB., Aitken ID. Second Edition. Oxford Blackwell Scientific Publications p:58-65. ISBN: 0 632 02957-9.
- Niemi SM, Evermann JF, Huffman EM, Kirk JH. Border disease virus isolation from postpartum ewes. *Am J Vet Res.* 1982 Jan;43(1):86-8. PMID: 6283955.
- Okur-Gumusova S, Yazici Z, Albayrak H. (2006) Pestivirus seroprevalence in sheep populations from inland and coastal zones of Turkey. *Revue De Medecine Veterinaire* 157, 593-596.
- Richardson C, Hebert CN, Terlecki S. Estimation of the developmental age of the ovine fetus and lamb. *Vet Rec.* 1976 Jul 10;99(2):22-6. doi: 10.1136/vr.99.2.22. PMID: 951923.
- Sawyer MM, Schore CE, Osburn BI. Border disease of sheep--aspects for diagnostic and epidemiologic consideration. *Arch Virol Suppl.* 1991;3:97-100. doi: 10.1007/978-3-7091-9153-8\_11. PMID: 9210930.
- Tautz N, Harada T, Kaiser A, Rinck G, Behrens S, Thiel HJ. Establishment and characterization of cytopathogenic and noncytopathogenic pestivirus replicons. *J Virol.* 1999 Nov;73(11):9422-32. doi: 10.1128/JVI.73.11.9422-9432.1999. PMID: 10516051; PMCID: PMC112977.
- Terpstra C. Border disease: virus persistence, antibody response and transmission studies. *Res Vet Sci.* 1981 Mar;30(2):185-91. PMID: 6265995.
- Thür B, Hilbe M, Strasser M, Ehrensperger F. Immunohistochemical diagnosis of pestivirus infection associated with bovine and ovine abortion and perinatal death. *Am J Vet Res.* 1997 Dec;58(12):1371-5. PMID: 9401683.

Tuncer-Göktuna P, Alpay G, Öner EB, Yeşilbağ K. (2016) The role of herpesviruses (BoHV-1 and BoHV-4) and pestiviruses (BVDV and BDV) in ruminant abortion cases in western Turkey. *Trop Anim Health Prod.* 48(5):1021-7. doi: 10.1007/s11250-016-1050-5. Epub 2016 Apr 1. PMID: 27038195.

Tuncer-Göktuna P, Alpay G, Öner EB, Yeşilbağ K. (2017) Co-existence of bovine viral diarrhea and border disease viruses in a sheep flock suffering from abortus and diarrhea. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 41(5):590-597. DOI: 10.3906/vet-1701-3

Vilcek S, Paton DJ. A RT-PCR assay for the rapid recognition of border disease virus. *Vet Res.* 2000 Jul-Aug;31(4):437-45. doi: 10.1051/vetres:2000130. PMID: 10958243.

Yavru S, Avcı O, Atlı K. (2014). Koyun fötüslerinde Border Disease Virus varlığının immunperoksidaz ile saptanması.. *Eurasian J Vet Sci*, , 30, 4, 222-226. DOI:10.15312/EurasianJVetSci.201447380.

## TEŞEKKÜRLER

Bu çalışma “Gebe Koyunlar ve Fötüslerinde Pestivirus Enfeksiyonu” adlı doktora tezinden üretilmiştir. Doktora tez çalışması Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 2001-08-10-029 proje numarası ile desteklenmiştir. Çalışma için Prof.Dr. İbrahim Burgu’ya, Prof.Dr. Aykut Özkul’a, Prof.Dr. Murat Fındık’a, Veteriner Hekim Mustafa Salman ve Ergun Yaşayan’a teşekkürlerimi sunarım.



**BİR FONKSİYONEL GIDA BİLEŞENİ OLARAK MORINGA OLEIFERA  
MORINGA OLEIFERA AS A FUNCTIONAL FOOD COMPONENT**

**Zeliha ERASLAN**

Öğr. Gör., Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi, Bahçe Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Programı,  
Bahçe, Osmaniye

ORCID ID: 0000-0001-9279-6058

**Özge SÜFER**

Doç. Dr., Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü,  
Osmaniye

ORCID ID: 0000-0001-8337-6318

**ÖZET**

Moringaceae familyasına ait olan mucizevi bitki *Moringa oleifera*, Hindistan ve Yunan tıbbında birçok besinsel ve biyoaktif bileşeninden dolayı kullanılmaktadır. Antioksidan, antidiyabetik, hepatoprotektif, antienflamatuar, kardiyoprotektif, antikanserijen ve antimikrobiyal özellikleri, Moringaya benzersiz farmösetik etkilerini kazandırmaktadır. Moringa yenilebilir bir bitki olmasına karşın, kabuğunda ve kökünde bulunan bazı bileşenler, bitkinin güvenilirliğini sınırlamaktadır.

Moringanın vejetatif yapılarındaki biyoaktif bileşenlerin kompozisyonları incelendiğinde, yapraklarının protein, lif, lignan, flavonoid ve fenolik asit; çiçeklerinin protein, enzim, flavonoid ve glukosinolat; tohum kabuğunun tanen, terpenoid, flavonoid ve saponin; kökünün karbonhidrat, protein ve fenolik bileşik ve de çekirdeğinin ise; protein, lif, karbonhidrat, yağ asiti ve fenolik bileşik bakımından zengin olduğu görülmektedir. Ayrıca, yapraklarının içerdiği mineral özellikle potasyum, çinko, kalsiyum, fosfor, magnezyum ve bakır miktarlarının dikkate değer ölçüde yüksek olduğu bilinmektedir.

*M. oleifera* çekirdeklerinin acımsı tadı ve içerdiği antinütrisyonel bileşikler, çiğ *M. oleifera* tohumunun/tozunun tüketimini ve sindirilebilirliğini kısıtlamaktadır. Bu yüzden, tüketilebilirliği arttırabilmek amacıyla pişirme, kavurma, fermentasyon ve çimlendirme işlemleri uygulanabilmektedir. *M. oleifera*'nın pek çok gıdada fonksiyonel bir komponent olarak kullanıldığı tespit edilmekle birlikte, kompozisyonuna dâhil olduğu gıdaların büyük bir çoğunluğunun unlu mamüller olduğu aşikârdır. Moringa bitkisinin yaprağının tozları kurabiye protein, lif ve mineral içeriğini; ekmeğin protein ve mineral içeriğini; ıslak kekin (brownie) protein ve lif miktarını; pirinç krakerlerinin karoten, kalsiyum ve vitamin C miktarlarını ve de atıştırmalıkların lif, protein ve flavonoid içeriğini arttırmak amacıyla kullanılmıştır. Gıdaları Moringa tozu ile zenginleştirme çalışmaları gıdanın sadece besin değerini geliştirmekle kalmamakta, hamurun stabilitesine, sindirilebilirliğe ve de antioksidan aktiviteye de olumlu yönde katkı sağlamaktadır. Diğer bir taraftan gıda endüstrisi, ürünlerinde buğday unu dolayısıyla gluten kullanımını sınırlamaya çalıştığından ötürü, Moringa bu bağlamda iyi bir seçenek olarak karşımıza çıkmaktadır.

Literatürde, Moringanın biyoaktif bileşiklerinin fonksiyonlarına değinilmiş olsa da, bu bileşiklerin gıda içindeki stabiliteleri, *in vivo* ve *in vitro* sistemlerdeki biyoyararlılıkları hala bilinmemektedir. Bu bildirinin, sözü geçen değerli bitki ile ileride çalışmak isteyen araştırmacılara ufak da olsa bir fikir vermesi amaçlanmıştır.

**Anahtar kelimeler:** *Moringa oleifera*, fonksiyonel gıda, biyoaktif bileşen

**ABSTRACT**

The miraculous plant *Moringa oleifera*, which belongs to the Moringaceae family, is used in Unani and Ayurvedic medicine for its many nutritional and bioactive components. Antioxidant, anti-diabetic,

hepatoprotective, anti-inflammatory, cardioprotective, anti-carcinogenic and anti-microbial characteristics of this plant give Moringa unique pharmaceutical effects. Although Moringa is an edible plant, some components in its bark and root limit the reliability of plant.

When the compositions of the bioactive components in the vegetative structures of Moringa are investigated, it is seen that, leaves, flowers, pod husks, bark and seeds are rich in protein, fiber, lignan, flavonoid and phenolic acid; protein, enzyme, flavonoid and glucosinolate; tannin, terpenoid, flavonoid and saponin; carbohydrate, protein and phenolic compound; protein, fiber, carbohydrate, fatty acid and phenolic compound, respectively. In addition, it is known that, the amount of minerals contained in leaves, especially potassium, zinc, calcium, phosphorus, magnesium and copper amounts are remarkably high.

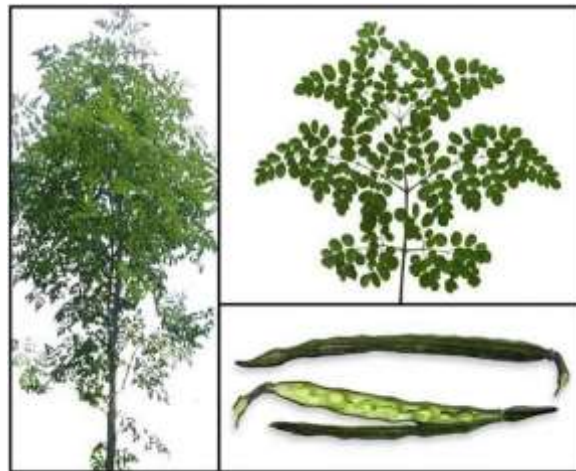
Bitter taste and antinutritional compounds contained in *M. oleifera* seeds limit the consumption and digestibility of raw *M. oleifera* seed/powder. Therefore, cooking, roasting, fermentation and germination processes can be applied in order to increase the consumability. Although it has been determined that, *M. oleifera* is used as a functional component in many foods, it is obvious that, most of the foods included Moringa are bakery products. The powders of the leaf of Moringa plant were used for the enrichment of protein, fiber and mineral content of the cookie; protein and mineral content of bread; protein and fiber content of the brownie; carotene, calcium and vitamin C amounts of rice crackers and fiber, protein and flavonoid content of snacks. Studies about the supplementation of foods with Moringa powder not only improve the nutritional value of the food, but also contribute positively to the stability of the dough, digestibility and antioxidant activity. On the other hand, since the food industry is trying to limit the usage of wheat flour and accordingly gluten in products, Moringa is a good option in this context.

Although the functions of the bioactive compounds of Moringa have been mentioned in the literature, the stability of these compounds in food and their bioavailability in in vivo and in vitro systems are still unknown. The aim of this paper is to give an idea, albeit a small one, to researchers who want to work with the aforementioned valuable plant in the future.

**Keywords:** *Moringa oleifera*, functional food, bioactive compound

## 1. GİRİŞ

Moringaceae ailesine ait olan *Moringa oleifera* (Şekil 1), içerdiği esansiyel fitokimyasallar sebebiyle insan beslenmesinde önemli bir rol oynama potansiyeline sahiptir. Moringa, havuçtan 10 kat daha fazla A vitaminine, portakaldan 7 kat daha fazla C vitaminine, süttten 17 kat daha fazla kalsiyuma, muzdan 15 kat daha fazla potasyuma, ıspanaktan 25 kat daha fazla demire ve de yoğurttan 9 kat daha fazla proteine sahiptir (Mutar ve ark., 2021; Rockwood ve ark., 2013).



**Şekil 1.** *Moringa oleifera* ağacı, yaprakları ve tohumları (Awodele ve ark., 2012; Tiloke ve ark., 2018)

Moringa yumru kökleri ve kurak koşullara karşı yüksek direnci nedeniyle, genellikle önemli bir kıtlık yiyeceği olarak kabul edilmektedir. Moringa ağacının kökleri, yaprakları, çiçekleri ve tohumları dâhil olmak üzere, hemen hemen her parçası tıpta, fonksiyonel gıda preparatı olarak, nutrasötiklerin yapısında, su arıtmada ve biyodizel üretiminde kullanılmaktadır (Padayachee & Baijnath, 2012; Saini, 2013; Saini ve ark., 2016). Moringa tohumu yağı; ABD, Almanya ve Avrupa'nın biyodizel standartlarının tüm temel özelliklerini karşıladığından biyodizel üretimi için potansiyel bir adaydır, bu nedenle ticari ve endüstriyel öneme sahiptir. Moringadan elde edilen düşük molekül ağırlıklı katyonik proteinlerden, kitin bağlayıcı protein izoformlarından ve lektinlerden, güçlü antimikrobiyal ve pıhtılaştırıcı özellikleri nedeniyle evsel ve endüstriyel su arıtmada ve sertlik gidermede başarıyla faydalanılmaktadır (Kansal & Kumari, 2014; Mofijur ve ark., 2014; Saini ve ark., 2016).

## 2. BESİN DEĞERİ VE FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ

Moringanın besin değeri iklimsel koşullar, toprak ve diğer çevre koşullarına göre değişkenlik göstermektedir. Taze Moringanın besin değeri oldukça yüksek olsa da, uygulanan işlemlerle de hem besin değeri hem de raf ömrü artırılabilir. Moringaya en çok uygulanan ısı işlemleri; güneşte kurutma, gölgede kurutma ve de konvektif kurutmadır (Rathnayake & Navarathna, 2017; Sahay ve ark., 2017). Tablo 1'de taze ve fırında kurutulmuş *M. oleifera* yaprağının 100 gramı başına besin öğelerine yer verilmiştir.

**Tablo 1.** Taze ve kurutulmuş Moringa yapraklarının makro ve mikro besin öğeleri

(Joshi & Mehta, 2010; Sahay ve ark., 2017)

<i>Besin öğesi</i>	<i>Taze yaprak</i>	<i>Kurutulmuş yaprak</i>
Karbonhidrat (g)	12.5	28.3
Yağ (g)	1.7	7.0
Protein (g)	6.7	23.8
C vitamini (mg)	220	56
Demir (mg)	0.9	19.0
Fosfor (mg)	70	215

Yapraklar ve ağacının diğer kısımları ham protein ve amino asitler açısından soya fasülyesi ile kıyaslanacak niteliktedir (Joy ve ark., 1998). İçerdiği çinko miktarı, günlük alınması tavsiye edilen çinko değeriyle birebir uyumludur (Gopalakrishnan ve ark., 2016). Sekonder metabolitlerden olan fenolik bileşikler ve tanen içeriği de (Tablo 2) dikkate değer ölçüde yüksektir (Masurekar ve ark., 2015). Sözü edilen bu fitokimyasallar, antioksidan, enflamasyonu önleyici ve kan basıncı düzenleyici etkilere sahiptir (Sahay ve ark., 2017).

**Tablo 2.** *M. oleifera* yaprağının çeşitli çözücü ortamlardaki biyoaktif bileşen içeriği

(Kasolo ve ark., 2010; Sahay ve ark., 2017)

<i>Fitokimyasal</i>	<i>Eter özütü</i>	<i>Etanol özütü</i>	<i>Su özütü</i>
Saponinler	Düşük	Düşük	Orta düzey
Alkaloitler	Düşük	Yok	Orta düzey
Kateşol tanenler	Düşük	Yok	Orta düzey
Gallik tanenler	Düşük	Düşük	Orta düzey
Flavonoidler	Orta düzey	Orta düzey	Orta düzey
Steroidler ve triterpenoidler	Yüksek	Orta düzey	Orta düzey

Tablo 2 incelendiğinde, *M. oleifera* fitokimyasalları için suyun en iyi çözücü olduğu görülmektedir. Bu demektir ki, Moringanın çay şeklindeki formu biyoaktif moleküllerin geri kazanımı için en iyi yoldur. Sadece steroid ve triterpen bileşiklerinin eter özütünde en yüksek çözünürlüğe sahip olduğu belirlenmiştir. Alkol ortamının ise sekonder metabolitler için elverişli bir ortam olduğu söylenememektedir.

Geleneksel tıpta genitoüriner rahatsızlıklar, sıtma, cilt hastalıkları, tifo, paraziter hastalıklar, artrit, şişlik, hiper tansiyon ve diyabet, Moringanın yaprakları ile tedavi edilebilecek düzeydedir. Ayrıca laktasyonu sağlamak, bağışıklık sistemini güçlendirmek (HIV virüsünün neden olduğu AIDS hastalığı gibi) ve doğum kontrolünü sağlamak amaçlarıyla, taze ya da kurutulmuş yaprakları direkt olarak ve/veya çay şeklinde demlenerek tüketilebilir (Anwar ve ark., 2007; Gandji ve ark., 2018; Leone ve ark., 2015; Popoola & Obembe, 2013; Sivasankari ve ark., 2014).

Suda kaynatılan ya da alkole batırılan Moringa kabukları; mide rahatsızlıklarını tedavi etmekte (mide ağrısı, ülseri ve sindirim) ve aynı zamanda yapraklarında olduğu gibi eklem ağrısı, hipertansiyon, diyabet, hemoroid ve uterus bozukluklarının iyileştirilmesinde yaygın kullanım alanları ile bilinmektedir. Çiçeklerinin ise, afrodisyak maddeleri üretmek ve iltihapları, kas hastalıklarını, histeriye, tümörleri ve dalağın genişlemesini iyileştirmek maksatlarıyla insanlar tarafından uzun yıllardır kullanıldığı göze çarpmaktadır (Abe & Ohtani, 2013; Anwar ve ark., 2007; Gandji ve ark., 2018; Popoola & Obembe, 2013; Yabesh ve ark., 2014).

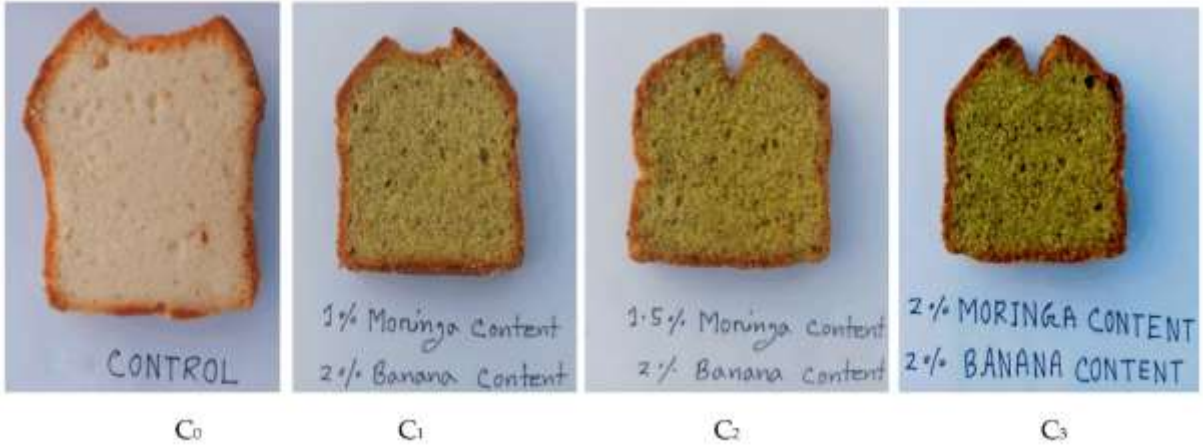
### 3. GIDA ENDÜSTRİSİNDE KULLANIMI

*M. oleifera* pek çok gıda formülasyonunda fonksiyonel bir bileşen olarak kullanılmakta ve bu gıda grupları genel olarak 8 kategori altında toplanabilmektedir; ekmek, bisküvi/kurabiye, kek, tahıl gevrekleri/lapaları, katı hamur, çorba, yoğurt ve peynirdir (Oyeyinka & Oyeyinka, 2018). Tablo 3'te *M. oleifera* içeren bu fonksiyonel gıdaların bir özetine yer verilmiştir. Şekil 2'de Moringalı kek örnekleri (Roni ve ark., 2021), Şekil 3'te ise ekmek örnekleri (Aly ve ark., 2022) gösterilmiştir.

**Tablo 3.** Moringa bitkisinin çeşitli kısımlarını içeren gıda örnekleri

<i>Gıda ürünü</i>	<i>İçerdiği Moringa kısmı/formu</i>	<i>Bulgular</i>	<i>Kaynak</i>
Buğday unu içeren ekmek	Yaprak tozu	Protein ve ham lif miktarında önemli düzeyde artışlar	(Chinma, Abu, ve ark., 2014; Sengev ve ark., 2013)
Buğday unu içeren ekmek	%15'a varan oranlarda çekirdek tozu	Protein düzeyinde maksimum %67 artış, duyuşal özellikleri koruma	(Ogunsina ve ark., 2011)
Buğday unlu kurabiye	%20 çekirdek tozu	Renk ve yüzeydeki kırılma davranışı kontrole göre ters orantılı etkilenmiş	(Ogunsina ve ark., 2011)
Pirinç krakeri	%5 taze yaprak tozu	Protein içeriğinde %14 artış	(Manaois ve ark., 2013)
Ispanak ve kavun çorbası	Değişen oranlarda yaprak	Duyusal analizde en yüksek skor 60:40 oranında ıspanak:kavun çorbasında (kontrollerden biri) gözlenmesine rağmen, %30 yaprak içeren kavunlu ve baharatlı çorba, kontrole en yakın puanı almış	(Babayaju ve ark., 2014)
Yoğurt	%0.5 ve %1 oranında yaprak tozu	%1 konsantrasyonda güçlü istenmeyen tat	(Hekmat ve ark., 2015)
Labne peyniri	%1, %2, %3 oranlarında yaprak tozu	%3, %5 ve %8 oranlarında protein düzeyinde artış, %3 oranında yaprak tozu içeren örnekte antioksidan aktivitede kontrole göre 3 kat artış	(Salem ve ark., 2013)
Buğday unlu kek	Değişen oranlarda çekirdek tozu	Karbonhidrat içeriği azalırken, protein, ham lif, demir, kalsiyum, çinko içerikleri artmış	(Chinma ve ark., 2014)
Buğday unlu kap kek	Değişen oranlarda yaprak tozu	En iyi kap kek formülasyonu %2 (maksimum doz) oranında yaprak	(Nurminah ve ark., 2019)

		tozu içeren kek ve de tüm örneklerde fizikokimyasal özelliklerde artış	
Tahıl lapası	Yaprak tozu ve çiçek tozu	A vitamini içeriği yaklaşık 15 kat artmış ve protein ve mineral içeriklerinde önemli artışlar kaydedilmiştir	(Abioye & Aka, 2015; Olorode ve ark., 2013)
Katı hamur (amala)	Yaprak tozu	% 2.5 ile güçlendirilmiş tatlı patates unundan hazırlanan amalanın protein içeriği (% 6.36), %2.5 ile güçlendirilmiş muz unundan hazırlanan amaladan 1.6 kat daha düşük	(Kar ve ark., 2013; Karim ve ark., 2015)



Şekil 2. Değişen oranlarda Moringa yaprağı tozu ve %2 muz unu içeren buğday unlu keklerin görüntüleri (Roni ve ark., 2021)

(C<sub>0</sub>: Kontrol keki, C<sub>1</sub>: %1 Moringa yaprağı tozu içeren kek, C<sub>2</sub>: %1.5 Moringa yaprağı tozu içeren kek, C<sub>3</sub>: %2 yaprağı tozu içeren kek)



Şekil 3. Kurutulmuş Moringa yaprağı tozu içeren Baladi ekmeği örnekleri (Aly ve ark., 2022)

(Soldan sağa; kontrol ekmeği, %6 oranında Moringa yaprağı tozu içeren ekmeği, %9 oranında Moringa yaprağı tozu içeren ekmeği)

#### 4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu derleme çalışmada dikkat çekilen tüm noktalar dikkate alındığında, bir fonksiyonel gıda bileşeni olarak *Moringa oleifera* bitkisinin içerdiği biyoaktif ve antioksidan özellikteki maddelerden dolayı, gıda

endüstrisinde özellikle unlu mamüller sektöründe ciddi bir potansiyele sahip olduğu görülmektedir (Milla ve ark., 2021). Ayrıca;

- Süt endüstrisinde de belli başlı tüketilen gıda maddelerinin formülasyonlarında da yer almaya başlayan Moringa, diğer tüm gıda alt sektörleri için umut vaat etmektedir.
- Tüm dünyada sıklıkla ve yaygın bir şekilde görülen hastalıkların tedavisi için Moringadan faydalandığı literatürde yer alan pek çok çalışma ile kanıtlanmıştır.
- Bu kadar geniş bir kullanım ağına sahip olan bitkinin güvenilirliğini ve uygulamalarını, özellikle kök kısmının içerdiği bazı besin ögesi olmayan maddeler sınırlayabilir. Bu nedenle, Moringanın kullanımından önce bu maddelerden arındırılması önem arz etmektedir.
- Özel beslenmek zorunda olan (çölyak hastaları, gluten alerjisi olan kişiler vs.) veya bu beslenme tarzını kendi tercihiyle benimseyen (vegan vb. diyetler) bireylerin tükettikleri gıda maddelerinde bir bileşen olarak Moringanın yer aldığı çalışmalar/ürünler sınırlıdır. Bu konularda daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.
- Çok yüksek polifenolik maddeye sahip olan Moringanın fenolik bileşiklerinin vücuttaki yararlanımı bilinmezliğini korumaktadır.

#### KAYNAKÇA

Abe, R., & Ohtani, K. (2013). An ethnobotanical study of medicinal plants and traditional therapies on Batan Island, the Philippines. *Journal of Ethnopharmacology*, 145(2), 554-565. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.11.029>

Abioye, V., & Aka, M. (2015). Proximate composition and sensory properties of moringa fortified maize-ogi. *J. Nutr. Food Sci. S*, 12, 1-4.

Aly, A. A., Zaky, E. A., Khatab, N. R., Hameed, A. M., & Kadasah, S. (2022). The Biological and Chemical Ameliorative Effects of Bread Substituted with Dried Moringa Leaves. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(7), Article 103875. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2022.103875>

Anwar, F., Latif, S., Ashraf, M., & Gilani, A. H. (2007). Moringa oleifera: a food plant with multiple medicinal uses. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 21(1), 17-25.

Awodele, O., Oreagba, I. A., Odoma, S., da Silva, J. A. T., & Osunkalu, V. O. (2012). Toxicological evaluation of the aqueous leaf extract of *Moringa oleifera* Lam. (Moringaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 139(2), 330-336. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.10.008>

Babayaju, A., Gbadebo, C., Obalowu, M., Otunola, G., Nmom, I., Kayode, R., . . . Ojo, F. (2014). Comparison of Organoleptic properties of egusi and efo riro soup blends produced with moringa and spinach leaves. *Food Sci Qual Manag*, 28, 15-18.

Chinma, C. E., Abu, J. O., & Akoma, S. N. (2014). Effect Of Germinated Tigernut And Moringa Flour Blends On The Quality Of Wheat- Based Bread. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(2), 721-727. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12023>

Chinma, C. E., Gbadamosi, K. B., Ogunsina, B. S., Oloyede, O. O., & Salami, S. O. (2014). Effect of addition of germinated moringa seed flour on the quality attributes of wheat-based cake. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(4), 1737-1742. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12136>

Gandji, K., Chadare, F., Idohou, R., Salako, V., Assogbadjo, A., & Kakai, R. G. (2018). Status and utilisation of Moringa oleifera Lam: A review. *African Crop Science Journal*, 26(1), 137-156.

Gopalakrishnan, L., Doriya, K., & Kumar, D. S. (2016). *Moringa oleifera*: A review on nutritive importance and its medicinal application. *Food science and human wellness*, 5(2), 49-56.

Hekmat, S., Morgan, K., Soltani, M., & Gough, R. (2015). Sensory Evaluation of Locally-grown Fruit Purees and Inulin Fibre on Probiotic Yogurt in Mwanza, Tanzania and the Microbial Analysis of

- Probiotic Yogurt Fortified with Moringa oleifera. *Journal of Health Population and Nutrition*, 33(1), 60-67.
- Joshi, P., & Mehta, D. (2010). Effect of dehydration on the nutritive value of drumstick leaves. *Journal of metabolomics and systems biology*, 1(1), 5-9.
- Joy, P., Thomas, S., Mathew, S., & Skaria, B. Medicinal Plants (1998). *Kerala Agricultural University Aromatic and Medicinal Plants Research Station Odakkali, Asamannoor PO, Ernakulam District, Kerala, India*, 188.
- Kansal, S. K., & Kumari, A. (2014). Potential of *M. oleifera* for the Treatment of Water and Wastewater. *Chemical Reviews*, 114(9), 4993-5010. <https://doi.org/10.1021/cr400093w>
- Kar, S., Mukherjee, A., Ghosh, M., & Bhattacharyya, D. (2013). Utilization of Moringa leaves as valuable food ingredient in biscuit preparation. *International Journal of Applied Sciences and Engineering*, 1(1), 29-37.
- Karim, O., Kayode, R., Oyeyinka, S., & Oyeyinka, A. (2015). Physicochemical properties of stiff dough 'amala' prepared from plantain (*Musa paradisca*) flour and Moringa (*Moringa oleifera*) leaf powder. *Hrana u zdravlju i bolesti: znanstveno-stručni časopis za nutricionizam i dijetetiku*, 4(1), 48-58.
- Kasolo, J. N., Bimenya, G. S., Ojok, L., Ochieng, J., & Ogwal-Okeng, J. W. (2010). Phytochemicals and uses of *Moringa oleifera* leaves in Ugandan rural communities.
- Leone, A., Spada, A., Battezzati, A., Schiraldi, A., Aristil, J., & Bertoli, S. (2015). Cultivation, Genetic, Ethnopharmacology, Phytochemistry and Pharmacology of *Moringa oleifera* Leaves: An Overview. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(6), 12791-12835. <https://doi.org/10.3390/ijms160612791>
- Manaois, R. V., Morales, A. V., & Abilgos-Ramos, R. G. (2013). Acceptability, Shelf Life and Nutritional Quality of Moringa-Supplemented Rice Crackers. *Philippine Journal of Crop Science*, 38(2), 1-8.
- Masurekar, T. S., Kadam, V., & Jadhav, V. (2015). Roles of Moringa oleifera in medicine-a review. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(1), 375-385.
- Milla, P. G., Penalver, R., & Nieto, G. (2021). Health Benefits of Uses and Applications of *Moringa oleifera* in Bakery Products. *Plants-Basel*, 10(2), Article 318. <https://doi.org/10.3390/plants10020318>
- Mofijur, M., Masjuki, H. H., Kalam, M. A., Atabani, A. E., Fattah, I. M. R., & Mobarak, H. M. (2014). Comparative evaluation of performance and emission characteristics of *Moringa oleifera* and Palm oil based biodiesel in a diesel engine. *Industrial Crops and Products*, 53, 78-84. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.12.011>
- Mutar, Y. S., Al-Rawi, K. F., & Mohammed, M. T. (2021). *Moringa oleifera*: Nutritive importance and its medicinal application, as a Review. *Egyptian Journal of Chemistry*, 64(11), 6827-6834. <https://doi.org/10.21608/ejchem.2021.78212.3823>
- Nurminah, M., Sinaga, H., & Gultom, N. S. (2019). The effect of the additional of Moringa leaves flour (*Moringa oleifera*) on the physicochemical properties of cup cake from composite flour. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science.
- Ogunsina, B. S., Radha, C., & Indrani, D. (2011). Quality characteristics of bread and cookies enriched with debittered *Moringa oleifera* seed flour. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 62(2), 185-194. <https://doi.org/10.3109/09637486.2010.526928>
- Olorode, O., Idowu, M., & Ilori, O. (2013). Effect of benoil (*Moringa oleifera*) leaf powder on the quality characteristics of 'Ogi'. *American Journal of Food and Nutrition*, 3(2), 83-89.
- Oyeyinka, A. T., & Oyeyinka, S. A. (2018). *Moringa oleifera* as a food fortificant: Recent trends and prospects. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 17(2), 127-136.
- Padayachee, B., & Bajinath, H. (2012). An overview of the medicinal importance of Moringaceae. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(48), 5831-5839.

- Popoola, J. O., & Obembe, O. O. (2013). Local knowledge, use pattern and geographical distribution of *Moringa oleifera* Lam. (Moringaceae) in Nigeria. *Journal of Ethnopharmacology*, 150(2), 682-691. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.09.043>
- Rathnayake, A., & Navarathna, S. (2017). Determination of Dehydration Pattern and Sensory Properties variation of Blanched and Unblanched, Cut and Whole *Moringa olifera* Leaves.
- Rockwood, J., Anderson, B., & Casamatta, D. (2013). Potential uses of *Moringa oleifera* and an examination of antibiotic efficacy conferred by *M. oleifera* seed and leaf extracts using crude extraction techniques available to underserved indigenous populations. *International Journal of Phytotherapy Research*, 3(2), 61-71.
- Roni, R. A., Sani, M. N. H., Munira, S., Wazed, M. A., & Siddiquee, S. (2021). Nutritional Composition and Sensory Evaluation of Cake Fortified with *Moringa oleifera* Leaf Powder and Ripe Banana Flour. *Applied Sciences-Basel*, 11(18), Article 8474. <https://doi.org/10.3390/app11188474>
- Sahay, S., Yadav, U., & Srinivasamurthy, S. (2017). Potential of *Moringa oleifera* as a functional food ingredient: A review. *Magnesium (g/kg)*, 8(9.06), 4-90.
- Saini, R. K. (2013). "[Studies on enhancement of carotenoids, folic acid, iron and their bioavailability in *Moringa oleifera* and in vitro propagation University of Mysore].
- Saini, R. K., Sivanesan, I., & Keum, Y. S. (2016). Phytochemicals of *Moringa oleifera*: a review of their nutritional, therapeutic and industrial significance. 3 *Biotech*, 6, Article 203. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0526-3>
- Salem, A. S., Salama, W. M., Hassanein, A., & El-Ghandour, H. M. (2013). Enhancement of nutritional and biological values of labneh by adding dry leaves of *Moringa oleifera* as innovative dairy products. *World Applied Sciences Journal*, 22(11), 1594-1602.
- Sengev, A. I., Abu, J. O., & Gernah, D. I. (2013). Effect of *Moringa oleifera* leaf powder supplementation on some quality characteristics of wheat bread. *Food and nutrition sciences*, 4(3), 270.
- Sivasankari, B., Anandharaj, M., & Gunasekaran, P. (2014). An ethnobotanical study of indigenous knowledge on medicinal plants used by the village peoples of Thoppampatti, Dindigul district, Tamilnadu, India. *Journal of Ethnopharmacology*, 153(2), 408-423. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.02.040>
- Tiloke, C., Anand, K., Gengan, R. M., & Chuturgoon, A. A. (2018). *Moringa oleifera* and their phytonanoparticles: Potential antiproliferative agents against cancer. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 108, 457-466. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.09.060>
- Yabesh, J. E. M., Prabhu, S., & Vijayakumar, S. (2014). An ethnobotanical study of medicinal plants used by traditional healers in silent valley of Kerala, India. *Journal of Ethnopharmacology*, 154(3), 774-789. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.05.004>



## CAPSAICIN'İN YAĞ DOKU KÖKENLİ MEZENKİMAL KÖK HÜCRELER ÜZERİNE ETKİSİ

### EFFECT OF CAPSAICIN ON MESENCHYMAL STEM CELLS OF ADIPOSE TISSUE

*Ece İNCEBIYIK*

<sup>1</sup>Dr, <sup>1</sup>Bursa Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bursa,  
Türkiye

<sup>1</sup>ORCID ID: 0000-0002-2740-4262

*Hatice ERDOST*

<sup>2</sup> Prof. Dr, <sup>2</sup>Bursa Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı,  
Bursa, Türkiye

<sup>2</sup>ORCID ID: 0000-0003-1547-7293

#### ÖZET

Kırmızı acı biberin etken maddesi olan Capsaisin (CAP) (8-metil-N-vanilil-trans-6-none amid) alkaloid bir yapıya sahiptir. Yetişkin memelilerdeki mezenkimal kök hücreler (MKH'ler), oldukça yaygın olan multipotent kök hücrelerdir. Bu çalışmanın amacı farklı süre ve dozlarda CAP uygulamasının adipoz kaynaklı mezenkimal kök hücreler üzerindeki olası farklılıklarını saptamaktır. CAP'ın kök hücrelerin fenotipik reaksiyonu üzerindeki etkileri; CD90, CD105, CD45 ve CD11b yüzey belirteçleri kullanarak immünohistokimyasal yöntemle belirlendi.

Mezenkimal kök hücre (MKH) izolasyonu ile elde edilen pasaj 3 hücrelerinde CD90 ve CD105'in pozitif, CD11b ve CD45 belirteçlerinin negatif immünreaksiyonu değerlendirildi. Aynı zamanda pasaj 3 hücrelerinde osteoblast, kondroblast ve adiposit hücre farklılaşması belirlendi. Daha sonra pasaj 3 MKH'lere 24 ve 48 saat süreyle 0, 5, 10, 25, 50, 100 ve 150 µM CAP dozları uygulandı. CAP'ın MKH'ler üzerindeki etkisi; CD90, CD105, CD11b ve CD45 antikorlarının immünreaksiyonları ile değerlendirildi.

Sonuç olarak; yağ dokusundan elde edilen pasaj 3 MKH'lerde, 24 ve 48 saatlik 5, 10 ve 25 µM CAP dozlarında CAP'ın kök hücre sağkalımını arttırdığı, MKH'lerin fenotipini olumlu yönde etkilediği belirlendi. Ancak 24 ve 48 saat uygulanan 50 µM ve üzeri dozlarda MKH'nin hücre farklılaşmasını indüklediği ve MKH fenotipini olumsuz etkilediği saptandı.

**Anahtar Kelimeler:** Capsaisin, Mezenkimal Kök Hücre, İmmunolokalizasyon, CD90, CD105, CD45 ve CD11b.

#### ABSTRACT

Capsaicin (8-methyl-N-vanillyl-trans-6-none amid), the active ingredient of red hot chili pepper, (CAP) has an alkaloid structure. Mesenchymal stem cells (MSCs) are multipotent stem cells that are highly prevalent in mammals. The present study was conducted to examine the possible differences in stem cell characterization effects of various times and doses of CAP administration on adipose-derived mesenchymal stem cells. The effects of CAP on stem cells' phenotypic reaction were determined by immunocytochemistry technique, which is the usage of cluster differentiation (CD) markers of CD90, CD105, CD45, and CD11b.

Positive immunoreaction of CD90 and CD105 and negative immunoreaction of CD11b and CD45 markers were determined in passage 3 cells that were obtained by mesenchymal stem cell (MSC) isolation. At the same time, differentiation of osteoblast, chondroblast, and adipocyte in passage 3 cells was determined. Then 0, 5, 10, 25, 50, 100, and 150 µM CAP doses were applied to passage 3 MSCs for 24 and 48 hours. The effect of CAP on the MSCs was evaluated by immunoreactions of CD90, CD105, CD11b, and CD45 antibodies.

As a result; in adipose tissue-derived passage 3 MSCs, it was determined that CAP at 5, 10, and 25  $\mu$ M CAP doses for 24 hours increased stem cell survival and positively affected the MSCs phenotype. However, it was determined that CAP at 50  $\mu$ M and above doses applied for 24 and 48 hours induced cellular differentiation and negatively affected the MSCs phenotype.

**Keywords:** Capsaicin, Mesenchymal Stem Cell, Immunolocalization, CD90, CD105, CD45, and CD11b.

## Introduction

The mesenchymal stem cells originated from rat adipose tissue are differentiated via specific cell culture media, which can differentiate into adipocytes, chondrocytes, osteoblasts, tenocytes, myocytes, astrocytes, hepatocytes, and pancreas ( $\beta$ ) cells (Toma ve ark., 2002; Chen ve ark., 2016; Chen, Jiang, Yang, 2004; Zołocińska, 2018). There are commercial serums containing many growth factors such as basic fibroblast growth factor (bFGF), vascular endothelial growth factor (VEGF), angiopoietin 1 (Ang-1), and placenta growth factor (PGF), and they can be added to the cell culture medium. Thus also, with the appropriate additives added to the cell culture medium, cellular proliferation are increases and stem cell development is positively supported (Chua et al., 2013).

The present study was conducted to examine the possible effects in stem cell characterization after the CAP administration that various times and doses of CAP applied on adipose-derived mesenchymal stem cells. The effects on stem cell phenotypic reactions were determined by immunocytochemistry, which is the usage of cluster differentiation markers of CD90, CD105, CD45 and CD11b.

## Materials and Methods

MSCs isolation with the technique of scratched cell culture flasks

This project of thesis study protocols were approved by the Uludag University Local Ethical Committee of Animal Experiments (2017-12/01) in Histology and Embryology Department of the Bursa Uludag University of Faculty of Veterinary Medicine (İncebiyık, E. 2021).

In the MSC isolation with nonenzymatic, we used 12 and 14 weeks old, 250-300 g, n=10, Sprague-Dawley rats (Ghorbani et al. 2014). Rats were injected with 10 mg/kg xylazine and 75 mg/kg ketamine were injected intraperitoneally. We excised approximately 1.5 gram adipose tissue from the visceral anatomical locations by each of the rats under sterile conditions. Adipose tissues were transported to the cell culture laboratory in the sterile 50 ml falcon tubes contained within Dulbecco's Phosphate-Buffered Saline (D-PBS). The samples were transferred to 70% alcohol and rinsed immediately with sterile D-PBS. The adipose tissue was minced into 2-3 mm thick fragments using two scalpels. The non-enzymatic cell isolation was used and adipose tissue-derived MSCs were isolated with scratched cell culture flasks that were reported in our previous study(Çerçi E., Erdost H. 2021). After the minced adipose tissues were implanted in the flasks. We used rat stem cell medium (Rat-MS; RAXMD-03011-440; Cyagen, Santa Clara, CA) supplemented with 2 mM L-glutamine, 1% penicillin-streptomycin and %20 heat-inactivated fetal bovine serum (FBS). These explant cultures were incubated at 37 °C, %96 humidity and %5 CO<sub>2</sub>. The culture medium was changed every three days until the monolayer of adherent cells reached 70% confluence. Upon reaching confluence, cells were advanced through passage three (P3) by subculturing. The primary cell cultures were examined in the first (P1), second (P2), and P3 passage by inverted microscope (Eclipse Ti-S/L100; Tokyo, Japan). Cell counting of MSCs passages was performed to analyze with trypan blue staining from first to third passages (P1, P2 and P3). For counting, a 1:1 ratio was used (100  $\mu$ L cell suspension with 100  $\mu$ L of trypan blue). Cell solution (10  $\mu$ L) was added to Thoma slides during the subculturing periods of P1, P2, and P3 that were counted on an inverted microscope (Nikon® Eclipse 80i Microscope, Netherlands). Photos were taken with a camera using a Nikon Eclipse 80i microscope with DS camera control unit DS-L (Nikon Corp., Tokyo, Japan).

## Differentiation of MSCs

The P3 cells were induced to differentiate into cells of lipogenic, osteogenic and chondrogenic cells. Differentiated cells in both groups were histologically stained with Oil red O, alizarin red and alcian

blue, respectively. Then we determined the differentiated cells via inverted microscopy (Zuk et al. 2001) (Eclipse Ti-S/L100; Tokyo, Japan).

#### Characterization of MSCs by immunocytochemistry

Fourty thousand cells (cells/cm<sup>2</sup>) were seeded on 8-well plastic culture slides for immunostaining and transferred to a CO<sub>2</sub> incubator for cell adhesion (standard conditions: 5% CO<sub>2</sub>, 37°C, 96% humidity) for 24 h. The cells were fixed with 4% paraformaldehyde for 1 h at room temperature and then with methanol for 15 min at -20 °C. Cells were rinsed with phosphate-buffered saline (PBS) four times. Cells were permeabilized with Triton-X 100 for 10 min and rinsed with PBS. Afterwards, these cells were incubated for 10 min with 3% hydrogen peroxidase and then rinsed with PBS. The blocking step was performed for 5 min at room temperature. The cells were incubated with CD90, CD105, CD45 and CD11b stem cell surface primary antibodies for 18 h at 4 °C in a humidity chamber. The cells were then incubated with a secondary antibody for 10 min and the streptavidin-peroxidase solution was added. Finally, the bound antibody complexes were stained which were treated with DAP for 5 min and counterstained with Harris Hematoxylin for 2 min and the images were observed under the microscope (Nikon Eclipse 80i) Çerçi, E., Erdost, H. (2019).

Three groups were organized for the Capsaicin application to adipose tissue-derived stem cells. While the control A and the control B groups were containing DMEM and DMSO, respectively, the experimental groups contained different doses of Capsaicin. (CLS3289; Sigma, Munich, Germany). The CAP was not applied to the control groups containing DMEM and DMSO for 24 and 48 hours. Different doses of 5, 10, 25, 50, 100 and 150 µM Capsaicin were applied to the experimental groups for 24 and 48 hours

#### MSCs characterization after the CAP administration

The CAP was applied on MSCs, which we performed to analyze stem cell characterization by cluster differentiation markers. For this purpose, after the CAP was applied to P3 mesenchymal stem cells, the immunocytochemistry analyzes were repeatedly performed by CD 90, CD105 and CD11b, CD45 (we presented this immunostaining technique in the above). The controls and the experimental groups of cells were examined on a microscope to determine positive and negative immunophenotyping. Randomly, five microscopic areas were counted and the per cent value of staining stem cells was calculated for each experiment group by two different times.

#### Statistical analysis

Differences between cell groups were analyzed using Kruskal Wallis and Mann-Whitney U tests. Statistical calculations were performed using SPSS 14.0.1 (SPSS Inc., Chicago, IL). Values for  $p \leq 0.05$  were considered statistically significant. Data are means  $\pm$  SE.

#### Results

##### Adipose-derived stem cell culture obtaining

The primary cell culture results were indicated that is the first (P1), second (P2), and third passage (P3) of the MSCs obtained with scratched cell flasks. On the first day; many little spot-like cells, defined as MSCs, appeared from the edges of the pieces of adipose tissue, and they could continue to grow and proliferate. The cells possessed strong abilities of proliferation and homogeneous formation in vitro. The cells had a stable homogeneous cell population that sphere-like colony was observed in vitro. P3 cells were capable to differentiate into osteogenic, chondrogenic and adipogenic lineages for stem cell identification.

##### Stem cell differentiation

The stem cell monolayers served to be indicative of calcification of extracellular matrix by Alizarin Red staining. It could be observed in the induced osteogenic cells on the day of 21. Adipogenic differentiated cells demonstrated positive staining of Oil red O solution indicating the lipid droplets formed on the cytoplasm of cells on the day of 12. Chondrogenic differentiated cells were examined with spheroidal chondroblasts cell on the day of 14 and positive stained with Alcian Blue 8 GX staining on the day of 28. These results confirm that the cells derived from pieces of adipose tissue were MSCs, which have

differentiation capacity for three lineages and these stem cells with no contamination by endothelial cells, pericytes and smooth muscle cells.

#### Characterization of stem cells

The stem cell immune characterization analysis indicated that P3 MSCs could positively express multiple CD markers, such as CD90, CD105 and no expressed CD11b and CD45 which P3 cells were mesenchymal stem cells.

#### CAP effect on the mesenchymal stem cell characterization

##### *Low doses of CAP administration*

The CD90 surface marker, there was no statistical difference in both 24 and 48 hours applications compared to control A, control B and 5, 10 and 25  $\mu\text{M}$  CAP doses ( $P < 0.05$ ).

It was compared to CD105 surface markers, there was no statistical difference in the dose of 5  $\mu\text{M}$  CAP. However the doses of 10 and 25  $\mu\text{M}$  CAP in a 24 hours period were increased immunoreaction statistically compare with the doses of control A, control B ( $P < 0.05$ ). The terms of the CD105 marker immunoreaction at 48-hour applications of 5, 10 ve 25  $\mu\text{M}$  CAP doses were not as statistically significant as control A and B.

In the terms of the CD45 surface markers immunoreactions; at 24 hours administration of 5, 10 ve 25  $\mu\text{M}$  CAP low doses were not significant. At the same time the 48 hours application of 5 and 10  $\mu\text{M}$  CAP were not significant, but the 25  $\mu\text{M}$  CAP dose was statistically significant ( $P < 0.05$ ).

In the terms of the CD11b surface markers; at 24 hours of administration of 5, 10 ve 25  $\mu\text{M}$  CAP low doses were not different. However, there was a statistically important difference in the dose of 25  $\mu\text{M}$  CAP at 48 hours of administration ( $P < 0.001$ ).

##### *High doses of CAP administration*

It was determined that the CD90 surface marker decreased in a statistically significant manner at the doses of 50  $\mu\text{M}$  CAP and above in the 24 and 48 hours application of cells belonging to the experimental and control groups ( $P < 0.05$ ).

In the controls and 50  $\mu\text{M}$  CAP dose were compared in 24 hours, it was found that the reaction was statistically significant and increased CD105 immunoreactions ( $P < 0.05$ ). In the doses of 100 and 150 $\mu\text{M}$  CAP applications were compared that there were no statistical differences. Besides that the 48-hour application was determined that CD105 immunoreaction was statistically significant and decreased at the doses of 50 $\mu\text{M}$  CAP and above of 50 $\mu\text{M}$  CAP ( $P < 0.001$ ).

CD 45 immunoreaction was found to increase between controls and 50, 100 and 150 $\mu\text{M}$  CAP application at 24-hours ( $P < 0.001$ ). At 48 hours application, differences were examined in 50, 100 and 150 $\mu\text{M}$  CAP doses comparing with controls ( $P < 0.05$ ).

It was observed that CD 11b immunoreaction increased statistically at 50  $\mu\text{M}$  CAP and above of the 50  $\mu\text{M}$  CAP application doses ( $P < 0.05$  and  $P < 0.001$ ). In addition, CD 11b immunoreaction was found a statistically significant increase between control A, control B and 25  $\mu\text{M}$  CAP and above of the 25  $\mu\text{M}$  CAP doses at 48 hours ( $P < 0.001$ ).

#### *Discussion*

In Zuk et al., 2002; Sakaguchi et al., 2005; Bunnell et al., 2008 studies reported that osteogenic differentiation of third passaged the mesenchymal stem cells were stained by Von Kossa or Alizarin Red histochemical staining for calcium mineralization on the 21st day. As in our study, we found that the mesenchymal stem cells were differentiated into the osteogenic lineage on the 21st day. In addition In our study, extracellular and intracellular matrix nodules and calcium mineralization were detected in osteoblasts on the day of 21st.

Moraes et al. (2016) reported that chondrogenic differentiation started in passage 3 mesenchymal stem cell line on day 14 and the fibroblastoid cell population transformed into cuboidal cells. As in our study, we found that proteoglycans showing cartilage matrix formation were formed after 28 days. At the same

time, cells with distinct chondrogenic differentiation in our study were detected on the day of 28th by the Alcian Blue staining method as Moraes et al. (2016) study.

Moreover the researchers (Zuk et al., 2001; Taha, Hedayati, 2010; Huang et al., 2013); reported on the adipogenic lineage differentiation of fibroblastoid form cells to vacuolar cells in the first week. As in our study; we detected adipogenic vacuolar cell formation on the 5th day. It was determined that the cell population changed from fibroblastoid form appearance to vacuolar adipocyte cells. they were the adipogenic cells. It was also demonstrated that lipid droplets were significantly increased in 70% of the cell population after 14 days. In addition, we detected that the cells that we differentiated in the adipogenic direction were transformed into red-coloured vacuolar adipocytes by the Oil Red O staining technique.

In phenotypic characterization studies of the Dominici ve ark., (2006); Yoshimura ve ark., (2006) ve Huang ve ark., (2013) reported that mesenchymal stem cells isolated from adipose tissue by the non-enzymatic method are expressed CD90 and CD105 surface markers. But they have not expressed the CD45 and CD11b surface markers. In our study, we found that CD90 and CD105 surface markers were expressed in third passaged cells. However the CD45 and CD11b surface markers were not expressed in our stem cells as in Yoshimura ve ark., (2006). Dominici ve ark., (2006); Yoshimura ve ark., (2006) ve Huang ve ark., (2013) reports. Thus, it was determined that our third passaged cells obtained by primary cell culture were at mesenchymal stem cell potential.

Lin et al., (2013) reported that was suppressed cell proliferation and induced cell apoptosis as a result of the CAP dose-dependent increase in the G2/M phase of the cell cycle in the kidney cancer cell line to which they applied 100, 150, 200 and 250  $\mu\text{M}$  CAP. They also reported that CAP produced apoptosis effect in cells by depolarization of mitochondrial membrane potential and activation of caspase 3 at application doses of 100, 200 and 250  $\mu\text{M}$  CAP (Lin et al., 2013). In addition, they reported that 100, 200 and 250  $\mu\text{M}$  CAP application doses triggered cellular apoptosis with depolarization of mitochondrial membrane potential and caspase 3 activations (Lin et al., 2013). As in Lin et al. (2013), we determined that doses of 50  $\mu\text{M}$  CAP and above reduced MSCs' cellular viability, stem cell hemostasis and stem cell potential. We also thought that these were the signals of stem cell apoptosis. Besides Qian et al. (2016) revealed that CAP destabilizes the mitochondrial membrane potential in MCF-7 breast cancer cell lines and exerts a chemoprotective effect, through the increase of ROS and the conversion of superoxide, a ROS component, to catalase. Also, Qian et al. (2016) reported that; the application of 150 and 300  $\mu\text{M}$  CAP for 48 hours suppressed proliferation in the bladder cancer cell line through the suppression of FOXO3a, which coordinates many tumorigenesis-forming genes in the Forkhead box (FOX) protein superfamily, and stimulates the increase of ROS by stopping the cell cycle.

We found that there was no differentiation at the dose of 5, 10 and 25  $\mu\text{M}$  CAP application in this study. However, Moraes et al. (2016) emphasized that with the decrease of CD90, the cells started to differentiate, that they moved away from the fibroblastoid structure and turned into polygonal cells. In our study, however, it was found that CD90 decreased especially at 50, 100 and 150  $\mu\text{M}$  CAP doses at 24 and 48 hours. It is thought that this may be related to the fact that these stem cells lose their extensions to survive, do not preserve their stem cell properties, take round-oval shapes and try to transform into cells with different functions. Thus, it was revealed that as the exposure time to CAP increased and higher CAP doses caused a regression in stem cell potential and loss of stem cell properties. The CD105 surface marker regulates endothelial cell migration, cellular survival and organization of the cytoskeleton, and plays an active role in angiogenesis (Ryu et al., 2010). However, the absence or decrease of CD105 is associated with MSC differentiation (Ryu et al., 2010). In the findings of our study, CD105 expression was similar to CD90; It was found that while it was expressed at 5, 10 and 25  $\mu\text{M}$  CAP doses in 24 hours, it was decreased at 50, 100 and 150  $\mu\text{M}$  CAP doses. It was observed that MSCs tried to re-coordinate their cellular organization to survive, especially at doses of 50  $\mu\text{M}$  CAP and above. For this purpose, differentiation, apoptosis, necrosis etc. It is thought to have chosen the path of cellular evolution. Because, in our study, it was determined in our microscopic examination that CD90 and CD105 expressions decreased after high-dose and long-term CAP application, while they were transformed into smaller non-applied cells in the microphotographic examination. We also thought that the cellular lineage differentiated in to different cell types in the high doses and long administration of CAP on MSCs.

In this study, it was determined that the CD11b, CD45 positive immunoreactions were started to increase and the CD90 and CD105 immunoreactions decreased by MSCs differentiated to various cell types via the administration of 50  $\mu$ M CAP and above doses at 48 hours. We found that cellular survival starts to decrease after 48 hours of 100 to 150  $\mu$ M CAP application, immune suppression against cellular stress and increase in CD11b and CD45 positive immunoreaction and decrease in stem cell population that need to be natural process of stem cell lineage survival.

### Conclusion

As a result it was determined that 5, 10 and 25  $\mu$ M CAP low doses administration had no effect on the phenotypic characterization of mesenchymal stem cells. It was observed that stem cells developed positively by maintaining cellular hemostasis in low doses of CAP application. However, in the case of a CAP application of 50  $\mu$ M and above of 50  $\mu$ M at 24 and 48 hours that high doses of CAP administration were triggered cellular differentiation, reduced stem cell size/shape which the cells have negatively affected by high doses of CAP administration. In conclude the stem cell development and stem cell hemostasis no developed positively by the high doses of CAP. We think that the examining this effect of CAP on cell development in terms of stem cell immunity may contribute on the field of cell regeneration and stem cell development in future studies.

### References

- Bunnell, B.A., Flaat, M., Gagliardi, C., Patel, B., & Ripoll, C. (2008). Adipose derived stem cells: isolation, expansion and differentiation. *Methods (San Diego, Calif.)*, 45(2), 115–120. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2008.03.006> Moraes et al. (2016)
- Chen, L.B., Jiang, X.B., & Yang, L. (2004). Differentiation of rat marrow mesenchymal stem cells into pancreatic islet beta-cells. *World journal of gastroenterology*, 10(20), 3016–3020. Erişim adresi: <https://doi.org/10.3748/wjg.v10.i20.3016>
- Chen, S., Zhang, W., Wang, J.M., Duan, H.T., Kong, J. H., Wang, Y.X., ... Song, J. (2016). Differentiation of isolated human umbilical cord mesenchymal stem cells into neural stem cells. *International journal of ophthalmology*, 9(1), 41– 47. Erişim adresi: <https://doi.org/10.18240/ijo.2016.01.07>
- Chua, K.H., Raduan, F., Wan Safwani, W.K., Manzor, N.F., Pinguan-Murphy, B., & Sathapan, S. (2013). Effects of serum reduction and VEGF supplementation on angiogenic potential of human adipose stromal cells in vitro. *Cell proliferation*, 46(3), 300–311. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1111/cpr.12029>
- Çerçi E, Erdost H. Rapid, practical and safe isolation of adipose derived stem cells. *Biotech Histochem.* 2021 Feb;96(2):138-145. doi: 10.1080/10520295.2020.1776895
- Çerçi E, Erdost H. (2019) "Phenotypic characterization and differentiation of mesenchymal stem cells originating from adipose tissue," *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*: Vol. 43: No. 6, Article 16. <https://doi.org/10.3906/vet-1810-61>
- Çerçi E., Erdost H. (2019) "Phenotypic characterization and differentiation of mesenchymal stem cells originating from adipose tissue," *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*: Vol. 43: No. 6, Article 16. <https://doi.org/10.3906/vet-1810-61>
- Çerçi, E. & Erdost, H. (2021). Rapid, practical and safe isolation of adipose derived stem cells. *Biotechnic&histochemistry: official publication of the Biological Stain Commission*, 96(2), 138-145. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1080/10520295.2020.1776895>
- Dominici, M., Le Blanc, K., Mueller, I., Slaper-Cortenbach, I., Marini, F., Krause, D., ... Horwitz, E. (2006). Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 8(4), 315–317. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1080/14653240600855905>
- Ghorbani, A., Jalali, S.A., & Varedi, M. (2014). Isolation of adipose tissue mesenchymal stem cells without tissue destruction: a non-enzymatic method. *Tissue & cell*, 46(1), 54–58. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1016/j.tice.2013.11.002>

Huang, S. J., Fu, R. H., Shyu, W. C., Liu, S. P., Jong, G. P., Chiu, Y. W.,...& Lin, S. Z. (2013). Adipose-derived stem cells: isolation, characterization, and differentiation potential. *Cell transplantation*, 22(4), 701–709. Erişim adresi: <https://doi.org/10.3727/096368912X655127>

İncebiyık, E. (2021). Capsaicin'in yağ doku kökenli mezenkimal kök hücreler üzerine etkisi. Doktora tezi. Bursa Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Lin, C.H., Lu, W.C., Wang, C.W., Chan, Y.C., & Chen, M.K. (2013). Capsaicin induces cell cycle arrest and apoptosis in human KB cancer cells. *BMC Complement Altern Med* 13, 46. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-46>

Qian, K., Wang, G., Cao, R., Liu, T., Qian, G., Guan, X., ... Wang, X. (2016). Capsaicin Suppresses Cell Proliferation, Induces Cell Cycle Arrest and ROS Production in Bladder Cancer Cells through FOXO3a-Mediated Pathways. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 21(10), 1406. Erişim adresi: <https://doi.org/10.3390/molecules21101406>

Ryu, C.H., Park, S.A., Kim, S.M., Lim, J.Y., Jeong, C.H., Jun, J.A., ... Jeun, S.S. (2010). Migration of human umbilical cord blood mesenchymal stem cells mediated by stromal cell-derived factor-1/CXCR4 axis via Akt, ERK, and p38 signal transduction pathways. *Biochemical and biophysical research communications*, 398(1), 105–110. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.06.043>

Sakaguchi, Y., Sekiya, I., Yagishita, K., & Muneta, T. (2005). Comparison of human stem cells derived from various mesenchymal tissues: superiority of synovium as a cell source. *Arthritis and rheumatism*, 52(8), 2521–2529. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1002/art.21212>

Taha, M.F., Hedayati, V. (2010). Isolation, identification and multipotential differentiation of mouse adipose tissue-derived stem cells. *Tissue & Cell* 42(4), 211-216. DOI: 10.1016/j.tice.2010.04.003

Toma, C., Pittenger, M.F., Cahill, K.S., Bytne, B.J., & Kessler, P.D. (2002). Human Mesenchymal Stem Cells Differentiate to a Cardiomyocyte Phenotype in the Adult Murine Heart. *Circulation* 105(1), 93–98. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1161/hc0102.101442>

Yoshimura, K., Shigeura, T., Matsumoto, D., Sato, T., Takaki, Y., Aiba-Kojima, E., ... Gonda, K. (2006). Characterization of freshly isolated and cultured cells derived from the fatty and fluid portions of liposuction aspirates. *Journal of Cellular Physiology*, 208(1), 64–76. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1002/jcp.2063>

Zołocińska, A. (2018). The expression of marker genes during the differentiation of mesenchymal stromal cells. *Advances in clinical and experimental medicine: official organ Wroclaw Medical University*, 27(5), 717–723. Erişim adresi: <https://doi.org/10.17219/acem/68386>

Zuk, P.A., Zhu, M., Ashjian, P., De Ugarte, D.A., Huang, J.I., Mizuno, H., ... Hedrick, M.H. (2002). Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Molecular biology of the cell*, 13(12), 4279–4295. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1091/mbc.e02-02-0105>

Zuk, P.A., Zhu, M., Mizuno, H., Huang, J., Futrell, J.W., Katz, A.J., ... Hedrick, M.H. (2001). Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue engineering*, 7(2), 211–228. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1089/107632701300062859>

Zuk, P.A., Zhu, M., Mizuno, H., Huang, J., Futrell, J.W., Katz, A.J., ... Hedrick, M.H. (2001). Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue engineering*, 7(2), 211–228. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1089/107632701300062859>

**POSTBIOTICS: HEALTH EFFECTS AND POTENTIALITY IN FUNCTIONAL FOODS**  
**POSTBİYOTİKLER: SAĞLIK FAYDALARI VE FONKSİYONEL GIDALARDAKİ**  
**POTANSİYELİ**

*Vildan Akdeniz<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Ege University, Faculty of Agriculture, Department of Dairy Technology, İzmir, Türkiye*

*<sup>1</sup>ORCID ID: 0000-0002-2288-7832*

**ABSTRACT**

Probiotics, prebiotics, and postbiotics could provide health benefits by affecting the gut microbiota of the host directly or indirectly. Although various kinds of definitions presented for the postbiotics, they are defined as “preparation of inanimate microorganisms and/or their components that confers a health benefit on the host” by the International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP). In order for probiotics to provide their health effects, they must survive against the inappropriate lethal conditions of the processing, storage, distribution, preparation, and digestion system. On the other hand, postbiotics have inherent stability to these unfavorable conditions. Stability of the postbiotics is the most important advantage over probiotics, and their safety profile is better due the loss of the ability to replicate. In addition, while viability is a must for probiotics, it is not for postbiotics. Overall, it has been suggested that postbiotics have similar health benefits with probiotics without the risk factors associated with using live microorganisms. Therefore, the use of postbiotics instead of probiotics in food products increasingly gained attention. Postbiotics could maintain their stability into a broad range of temperatures and pH, and thus they can even be added into foods with maximum acidity and/or before heat treatment. Generally, postbiotics have less or no interaction and migration with other food ingredients. Postbiotics have antioxidative, anti-inflammatory, immunomodulatory, anti-hypertensive, anti-obesogenic, and hypocholesterolemic properties by inhibiting abnormal cell proliferation due to their various signaling molecules, unique chemical structure, no detected toxicity, safe profile, resistance to mammalian intestinal enzymes, and long shelf-life. Postbiotics can also be used as natural antimicrobial agents in food packaging. Depending on the product, a cold chain could not be required for postbiotic products during storage and transportation, providing a great economic advantage for the food manufacturer. In addition, postbiotics do not cause antibiotic resistance. Consequently, postbiotics can be added into many functional foods to promote the shelf-life of products, to develop novel functional foods, and to improve health benefits and therapeutic aims. Postbiotics are emerging as promising functional ingredients in the functional food market.

**Keywords:** postbiotics, functional food, health

**1. INTRODUCTION**

The importance of the human microbiota for human health has been firmly recognized over the past few decades. Thus, consumers, food manufacturers and health professionals are increasingly pay attention to modulation of microbial interactions for the improvement of human health (Salminen et al., 2021). In this context, new terminologies have emerged and one of them is postbiotic. In the simplest way, postbiotics can be expressed as metabolic by-products of probiotic microorganisms with metabolic activity (Aguilar-Toala et al., 2018). In 2019, a clear and comprehensive definition of postbiotics was made by International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) as “preparation of inanimate microorganisms and/or their components that confers a health benefit on the host” (Salminen et al., 2021). In addition, the criteria that they should include to be qualify as postbiotics are given in Fig. 1 (Feizi et al., 2022):





**Figure 1.** Postbiotics Qualification Criteria According to ISAPP (Feizi et al., 2022)

Furthermore, the following main aspects regarding with postbiotics has been stated by Salminen et al. (2021):

- Postbiotics are intentionally inactivated microbial cells with/without metabolites or cell components that confer definite health benefits.
- Purified microbial metabolites and vaccines do not fit the definition of postbiotic.
- It is not necessary for the postbiotics to be derived from the probiotics.
- The positive health effects of a postbiotic must be confirmed in the administered host.
- The host is not limited with humans, but may also include animals and livestock.
- Besides the gut, postbiotics can also be applied to host surfaces such as the oral cavity, intestine, skin, urogenital tract, or upper pharynx.
- The postbiotic must be safe for its intended use.

The classification of postbiotic components due to their fundamental compositions are given Fig. 2 (Sabahi et al., 2022). Postbiotics have a similar protective effect with probiotics on intestinal barrier function and positively affect human health depending on these components (Gao et al., 2019).



**Figure 2.** Classification of Postbiotic Components

## 2. HEALTH EFFECTS OF POSTBIOTICS

It is a known fact that there is an important relationship between the gut microbiota and some health-promoting mechanisms. The studies showed that postbiotics are functional bioactive compounds that can be used to promote health. As seen in the Fig. 3, they have anti-inflammatory, anti-hypertensive, anti-obesogenic, antibacterial, antioxidant, hepatoprotective, and hypocholesterolemic activities, and provide regulation of intestinal microbiota and epithelial barrier function, modulation of immune cell response and inhibitory role against pathogens (Barros et al., 2020; Nataraj et al., 2020). The composition of postbiotics varies depending on the host response and food production processes. This may cause a change in the action mechanisms of postbiotics, which have a wide range from short-chain fatty acids to vitamins, on health (Wegh et al., 2019).

Microbiota and microbiome balance has become key factors for therapy, nutrition and health, as the composition of microbiota is closely related to a range of diseases. Postbiotics have diverse effects on both the composition and function of the gut microbiota. These effects of postbiotics are considered to be mediated by the interactions between the host and microbial metabolites, proteins, lipids and carbohydrates, vitamins, organic acids, cell wall components and other complex molecules (Wegh et al., 2019). It has been reported that postbiotics produce bacteriocins that compete with pathogenic bacteria by showing bacteriostatic or bactericidal effects, thus contributing to intestinal homeostasis (Mosca et al., 2019). Moreover, it has been stated that other postbiotic components such as enzymes, small molecules and organic acids could inhibit pathogen growth (Cicenia et al., 2014).



**Figure 3.** Health Benefits of Postbiotics

Postbiotic metabolites provide anti-inflammatory activity when they reach the small intestine, and they destroy pathogens with their antioxidant effects and strengthen the immune system due to the antimicrobial peptides in their structure (Pelton, 2020). Also, short-chain fatty acids contribute regulating the immune system, and play a role in lipid metabolism. Thus, it reduces the risk of cardiovascular disease and regulate insulin sensitivity (Aguilar-Toala et al., 2018; Sabahi et al., 2022). Intracellular bacterial enzymes such as glutatyon peroksidaz posses antioxidant effects as well as detoxification and immune system enhancing effects (Pelton, 2020). Postbiotics also prevent diarrhea, reduce the incidence of pharyngitis, laryngitis, atopic dermatitis, and asthma exacerbations (Zolkiewicz et al., 2020).

### 3. POSTBIOTICS IN FOODS

The interest in the use of postbiotics in the food industry, which can be used in various fields such as pharmaceuticals, aquaculture and agriculture, has increased in recent years (Moradi et al., 2020). The use of postbiotics instead of probiotics in foods has advantages such as longer shelf life, easier storage, handling, and transportation, as the functionality is not dependent on the viability of cell. Bacteriocins, bioactive peptides, exopolysaccharides, and antioxidant molecules come to the fore in the use of postbiotics in foods (Hernandez-Granados and Franco-Robles, 2020).

Postbiotics could be used as food preservatives and food additives as well as edible biofilms. In addition, they can be used in the reduction and biodegradation of some food safety-related chemical contaminants and to inhibit food pathogens. It has been reported that exopolysaccharides improved physicochemical properties such as water holding capacity and viscosity, rheological and sensorial properties in food products (Aguilar-Toala et al., 2018). Some recent studies on postbiotics in the food industry are presented in Table 1.

**Table 1.** Recent studies regarding with postbiotics in the food industry

Food Product	Added Postbiotic	Investigated Effect	Result	Reference
Potato	Combined effect of formic acid and nisin	Antimicrobial effectiveness of formic acid and nisin combination against <i>Bacillus subtilis</i> in the prevention of potato spoilage	The combination of nisin and formic acid inactivated the proliferation of <i>Bacillus subtilis</i> .	Ajingi et al. (2020)
Fresh beef	Cell-free supernatants from lactic acid bacteria	Antimicrobial activity	Antimicrobial activity has been determined against <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Shigella sonnei</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> ve <i>Listeria monocytogenes</i> .	Arrioja-Bretón et al. (2020)
Yoghurt	Polysaccharide extracts from <i>Lactarius volemus</i> Fr.	Effect on yoghurt quality properties, amino acid content and probiotic viability	Polysaccharide extracts from <i>L. volemus</i> Fr. improved water holding capacity, reduced pH, and increased the viable probiotic bacteria count and essential amino acid content of the probiotic yoghurts.	Huang et al. (2020)
Ribbonfish fillet	Lactic acid bacteria cell-free culture supernatant	Extending the shelf life	The treatment of ribbonfish fillets with postbiotics resulted in the improvement of food qualities related to physicochemical parameters, extension of the shelf life, and retardation of microbial growth	Jo et al. (2021).
Raw ground goat meat	Biosurfactants produced by <i>Lactobacilli</i> strains	Using as biopreservative and improvement of the shelf life	Treatments of ground goat meat with biosurfactants increased the shelf life of the meat up to 15 days and showed better color stability .	Mouafo et al. (2020)
Skim milk	Cell-free supernatants of <i>Lactobacillus plantarum</i> strains isolated from Polish regional cheeses	Anti-staphylococcal activity	Cell-free supernatants of <i>L. plantarum</i> cultures inhibited growth of <i>Staphylococcus aureus</i> and exhibited anti-staphylococcal activity. It has been stated that they can be used as protective cultures in the food industry.	Oldak et al. (2020)

#### 4. CONCLUSION

Postbiotics emerge as an effective way to increase the power of probiotics to transform into functional components or therapeutic agents. In addition, postbiotic compounds have technological, safety and economic advantages compared to live probiotic cells. Postbiotics possess various biological activities which can improve host health by creating specific physiological effects. Consequently, it has been revealed that postbiotics have a significant impact on the promotion of human health. Although the use of postbiotics in the food industry is a new approach, their use in potential functional foods to against different diseases is promising. As the exact mechanisms of action have not been clarified yet, future studies and long-term clinical applications are recommended to elucidate them.

#### 4. REFERENCES

- Aguilar-Toala, J. E., Garcia-Varela, R., Garcia, H. S., Mata-Haro, V., González-Córdova, A. F., Vallejo-Cordoba, B., & Hernández-Mendoza, A. (2018). Postbiotics: An evolving term within the functional foods field. *Trends in Food Science & Technology*, 75, 105-114.
- Ajingi, Y.S., Ruengvisesh, S., Khunrae, P., Rattanarajpong, T., & Jongruja, N. (2020). The combined effect of formic acid and Nisin on potato spoilage. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 24, 101523.
- Arrijoja-Bretón, D., Mani-López, E., Palou, E., & López-Malo, A. (2020). Antimicrobial activity and storage stability of cell-free supernatants from lactic acid bacteria and their applications with fresh beef. *Food Control*, 115, 107286.
- Barros, C. P., Guimaraes, J. T., Esmerino, E. A., Duarte, M. C. K., Silva, M. C., Silva, R., ... & Cruz, A. G. (2020). Paraprobiotics and postbiotics: concepts and potential applications in dairy products. *Current Opinion in Food Science*, 32, 1-8.
- Cicenia, A., Scirocco, A., Carabotti, M., Pallotta, L., Marignani, M., & Severi, C. (2014). Postbiotic activities of lactobacilli-derived factors. *Journal of clinical gastroenterology*, 48, S18-S22.
- Feizi, H., Plotnikov, A., Rezaee, M. A., Ganbarov, K., Kamounah, F. S., Nikitin, S., ... & Kafil, H. S. (2022). Postbiotics versus probiotics in early-onset colorectal cancer. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-10.
- Gao, J., Li, Y., Wan, Y., Hu, T., Liu, L., Yang, S., ... & Cao, H. (2019). A novel postbiotic from *Lactobacillus rhamnosus* GG with a beneficial effect on intestinal barrier function. *Frontiers in microbiology*, 10, 477.
- Hernández-Granados, M. J., & Franco-Robles, E. (2020). Postbiotics in human health: Possible new functional ingredients?. *Food Research International*, 137, 109660.
- Huang, Y., Zhao, S., Yao, K., Liu, D., Peng, X., Huang, J., ... & Li, L. (2020). Physicochemical, microbiological, rheological, and sensory properties of yoghurts with new polysaccharide extracts from *Lactarius volemus* Fr. using three probiotics. *International Journal of Dairy Technology*, 73(1), 168-181.
- Jo, D. M., Park, S. K., Khan, F., Kang, M. G., Lee, J. H., & Kim, Y. M. (2021). An approach to extend the shelf life of ribbonfish fillet using lactic acid bacteria cell-free culture supernatant. *Food Control*, 123, 107731.
- Moradi, M., Kousheh, S. A., Almasi, H., Alizadeh, A., Guimarães, J. T., Yılmaz, N., & Lotfi, A. (2020). Postbiotics produced by lactic acid bacteria: The next frontier in food safety. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(6), 3390-3415.
- Mosca, F., Gianni, M. L., & Rescigno, M. (2019). Can postbiotics represent a new strategy for NEC?. *Probiotics and Child Gastrointestinal Health: Advances in Microbiology, Infectious Diseases and Public Health Volume 10*, 37-45.
- Mouafo, H. T., Mbawala, A., Tanaji, K., Somashekar, D., & Ndjouenkeu, R. (2020). Improvement of the shelf life of raw ground goat meat by using biosurfactants produced by lactobacilli strains as biopreservatives. *LWT*, 133, 110071.

- Nataraj, B. H., Ali, S. A., Behare, P. V., & Yadav, H. (2020). Postbiotics-parabiotics: The new horizons in microbial biotherapy and functional foods. *Microbial cell factories*, 19(1), 1-22.
- Oldak, A., Zielińska, D., Łepecka, A., Długosz, E., & Kołożyn-Krajewska, D. (2020). Lactobacillus plantarum strains isolated from polish regional cheeses exhibit anti-staphylococcal activity and selected probiotic properties. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 12, 1025-1038.
- Pelton, R. (2020). Postbiotic metabolites: How probiotics regulate health. *Integrative Medicine: A Clinician's Journal*, 19(1), 25.
- Sabahi, S., Homayouni Rad, A., Aghebati-Maleki, L., Sangtarash, N., Ozma, M. A., Karimi, A., ... & Abbasi, A. (2022). Postbiotics as the new frontier in food and pharmaceutical research. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-28.
- Salminen, S., Collado, M. C., Endo, A., Hill, C., Lebeer, S., Quigley, E. M., ... & Vinderola, G. (2021). The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 18(9), 649-667.
- Wegh, C. A., Geerlings, S. Y., Knol, J., Roeselers, G., & Belzer, C. (2019). Postbiotics and their potential applications in early life nutrition and beyond. *International journal of molecular sciences*, 20(19), 4673.
- Zolkiewicz, J., Marzec, A., Ruszczyński, M., & Feleszko, W. (2020). Postbiotics—a step beyond pre- and probiotics. *Nutrients*, 12(8), 2189.

**KANATLILARDA SARI KESESİ KULLANIMI**  
**YOLK SAC UTILIZATION IN POULTRY**

<sup>1</sup>*Merve Gündüz*

<sup>1</sup>*Bursa Uludag University, Faculty of Agriculture, Department of Animal Science, Bursa, Türkiye*  
*ORCID ID: 0000-0002-5449-9893*

<sup>2</sup>*Arda Sözcü*

<sup>2</sup>*Bursa Uludag University, Faculty of Agriculture, Department of Animal Science, Bursa, Türkiye*  
<sup>3</sup>*ORCID ID: 0000-0002-0955-4371*

<sup>3</sup>*Ahmet Kaşif*

<sup>3</sup>*Bursa Uludag University, Faculty of Agriculture, Department of Animal Science, Bursa, Türkiye*  
<sup>3</sup>*ORCID ID: 0000-0002-2629-0240*

**ÖZET**

Etlik piliç üretimindeki gelişmeler ile kuluçkahanelerde ve üretim aşamasında kaliteli civciv eldesi ve yüksek üretim potansiyeli önem kazanmaktadır. Bir günlük yaşta civciv kalitesi embriyonik gelişim sırasındaki kuluçka koşullarından etkilemekte ve kuluçka koşulları çıkış sonrası üretim dönemindeki performansa yansımaktadır. Kuluçka başarısının değerlendirilmesinde başlıca kuluçkahanelerde yüksek oranda satılabilen civciv eldesi hedeflenmektedir. Kaliteli civciv eldesi kuluçkahanelerin başarı göstergesi ve etlik piliç yetiştiriciliğinde verimliliğin ön koşuludur. Civciv kalitesi, dölleme anından başlayarak civcivlerin kümeslere yerleştirilme anına kadar birçok faktörden etkilenmektedir. Başlıca bu faktörler kuluçka öncesi faktörler ve kuluçka koşulları olarak sınıflandırılmaktadır. Embriyo gelişimi, civciv kalitesi ve dolayısıyla çıkış sonrası etlik piliç performansı bu faktörlerden etkilenmektedir. Uygun olmayan ön kuluçka koşulları ve kuluçka sıcaklıkları, sarı kesesi dokusunun gelişimini ve yumurta sarısının kullanımını etkileyebilir. Kuluçkada embriyonik gelişim öncelikle yumurtanın besin içeriğine bağlıdır. Sarı kesesi, yumurtadan yeni çıkmış bir civcive yaşamın ilk birkaç günü boyunca gerekli bütün besin maddelerini sağlamaktadır. Protein, yağ, karbonhidrat ve mineraller, embriyo tarafından kullanılmak üzere yumurta sarısında depolanmaktadır. Bu besin maddelerinin kullanımı, yumurta sarısını çevreleyen ekstra embriyonik bir zar olan sarı kesesi tarafından sağlanmaktadır. Bununla birlikte yumurta sarı içeriği, embriyoya sarı kesesi ve sarı sapı yoluyla aktarılmaktadır. Sarı kesesi, yumurta sarısı ve yumurta sarısını çevreleyen gelişmekte olan embriyo için temel metabolik işlevleri sağlayan sarı kesesi dokusundan oluşmaktadır. Sarı kesesi dokusu, endodermal epitel tabaka, mezodermal tabaka ve dış ektodermal tabakadan meydana gelmektedir. Kuluçka sonunda sarı kesesi dokusu civcivin karın boşluğuna çekilip sindirilerek parçalanmaya başlamaktadır. Bu derlemede, civciv kalitesi ile ilişkili olarak kuluçka sırası ve kuluçka sonrası sarı kesesi dokusunun oluşumu, gelişim mekanizması ve işlevsel özellikleri incelenmektedir.

**Anahtar kelimeler;** Sarı kesesi, kuluçka koşulları, embriyo gelişimi

**ABSTRACT**

High-quality chick production obtained in hatcheries and broiler production have gained importance. One-day-old chick quality is affected by hatching conditions during embryonic development, and hatching conditions are reflected in performance during the post-hatching period. Chick quality is affected by a number of factors from fertilization to placing the chicks in broiler houses. These main factors are classified as pre-hatching factors and incubation conditions. Embryo development, chick quality and post hatching broiler performance are affected by these factors. Pre-incubation conditions and incubation temperatures can affect yolk sac tissue development and yolk utilization. Embryonic

development in incubation is primarily dependent on the nutritional content of the egg. The yolk sac provides a newly hatched chick with all the necessary nutrients during the first few days of life. Protein, fat, carbohydrates and minerals are stored in the yolk for use by the embryo. The use of these nutrients is provided by the yolk sac, an extra-embryonic membrane that surrounds the yolk. Also, the yolk content is transferred to the embryo via the yolk sac and yolk stalk. The yolk sac consists of the yolk and the yolk sac tissue surrounding the yolk sac, which provides basic metabolic functions for the developing embryo. The yolk sac tissue consists of the endodermal epithelial layer, the mesodermal layer and the outer ectodermal layer. Additionally, the yolk sac tissue is absorbed the chick's abdominal cavity, digested and begins to break down at the end of the incubation, This review provides the formation, development mechanism and functional properties of the yolk sac tissue during hatching and post- hatching period are considered in relation to chick quality.

**Keywords;** Yolk sac, hatching conditions, embryo development

## GİRİŞ

Yumurta, embriyonun gelişimi için ihtiyaç duyulan bütün gerekli besin maddelerini içerir. Protein, yağ, karbonhidrat ve mineraller, embriyo tarafından kullanılmak üzere yumurta sarısında depolanır (Burley ve Vadehra, 1989). Yumurta içeriğindeki bu besin maddeleri yeni bir doku oluşturmak, doku-kas aktivitesi ve gelişimini sürdürmek için embriyoya aktarılır (Mikec ve ark., 2006). Yumurta sarısı, embriyonik gelişim sırasında dokuların büyümesi, organların gelişimi için temel enerji kaynağıdır (Ulmer-Franco ve ark., 2010; Yadgary ve ark., 2010). Besin maddelerinin embriyo tarafından kullanımı yumurta sarısını çevreleyen ekstra embriyonik bir zar olan sarı kesesi tarafından sağlanır. Kuluçkanın ilk haftasında, sarı kesesinin iç endodermal tabakasının yüzey alanı artar ve dış destekleyici mezodermal tabaka tarafından sarı kesesinin vaskülarizasyonu ile birlikte yumurta sarısının yüzeyine yayılır.

Kuluçkanın 19. gününde embriyo, sarı kesesini karın boşluğuna çekmeye başlar (Mikec ve ark., 2006). Kalıntı sarı kesesi olarak isimlendirilen bu yapının yapılan çeşitli araştırmalarda çıkışta kuluçkadan yeni çıkan civcivlerin vücut ağırlıklarının yaklaşık %15-25'lik kısmını oluşturduğu saptanmıştır (Şahan ve ark., 2014).

Kalıntı sarı kesesi yumurtadan yeni çıkan bir civcive yaşamının ilk günlerinde ihtiyaç duyduğu besin maddelerini sağlamaktadır (Mikec ve ark., 2006). Kuluçka sırasında embriyo gelişimi, embriyonel canlı ağırlık, sarı kesesiz canlı ağırlık, vücut uzunluğu, gövde uzunluğu ve bacak uzunluğu ile belirlenir (Hill, 2001; Molenaar ve ark., 2008). Besin maddelerinin yumurta sarı kesesi yoluyla embriyo tarafından emilimi ve kullanımı çeşitli faktörlerden etkilenir. Bunlar arasında en önemli faktörler damızlık yaşı ve yumurta ağırlığıdır (Gous, 2010; Yadgary ve ark., 2010). Nangsuay ve ark. (2011), yaşlı sürüden (53 haftalık yaş) elde edilen embriyo ve civcivlerin kuluçkanın 18. gününde ve kuluçkadan çıkışta yumurta sarısı emiliminin (belirli miktar ve bağıl değer) genç sürüden (29 haftalık yaş) daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Bununla birlikte yumurta ağırlığı, sarı emiliminden dolayı embriyo gelişimini de etkiler. Hafif yumurtalarda optimum embriyo gelişimi için yumurta sarısı kullanımının ağır yumurtalara göre yetersiz kalabileceği bilinmektedir (Gous, 2010).

Kuluçkadan çıkıştan sonraki ilk 3 gün boyunca kalıntı sarı kesesi civcivlerin büyümesi ve gelişimi için kritik öneme sahiptir. Kalıntı sarı kesesinin civciv tarafından yetersiz kullanımı özellikle yaşamın ilk günlerindeki bağırsak gelişimi ve yem tüketimini olumsuz etkiler (Turro ve ark., 1994).

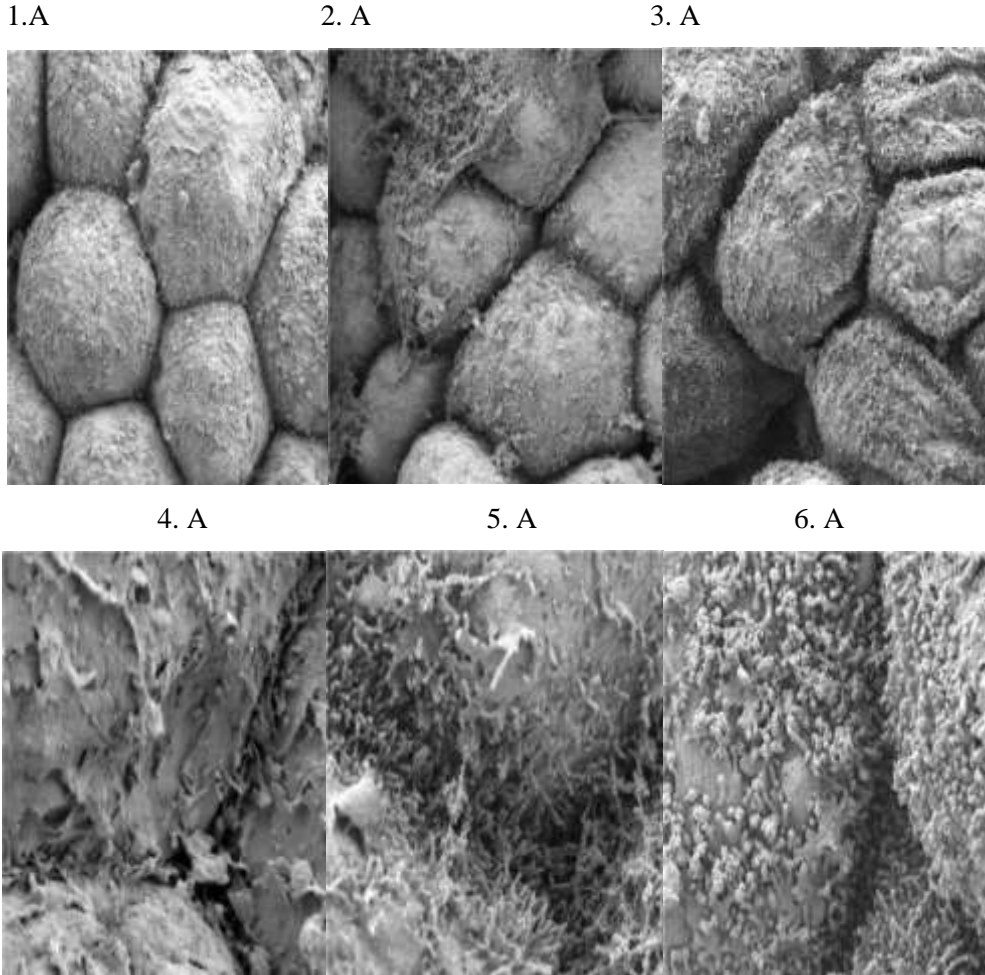
Bu derlemede, kuluçka döneminde sarı kesesi dokusunun oluşumu, sarı kesesinin fonksiyonel özellikleri ve sarı kesesinin kullanımına etki eden faktörler hakkında bilgi verilecektir.

### Sarı kesesi oluşumu

Sarı kesesi besinlerin embriyonik dolaşıma taşınmasından sorumlu ekstra-embriyonik bir zardır (Noble ve Cocchi, 1990). Sarı kesesi dokusu, embriyonal gelişimin yaklaşık 2. günü embriyonik bağırsaktan ilerleyen ve yavaş yavaş yumurta sarısı içeriğini çevreleyen bir zar oluşturan damarlı bir dokudur (Patten, 1971). Sarı kesesi dokusu kuluçkanın 3 ile 4 günleri boyunca gelişmekte olan embriyonun orta bağırsak dokusunda meydana gelen düzenli hücre bölünmesi ile 3 katlı hücre katmanını oluşturur: Endoderm, mezoderm ve ektoderm.



İlk olarak, embriyodan alınan ektodermal hücreler hızla yumurta sarısının yüzeyine yayılır. Bunun ardından endodermal hücreler yumurta sarısı ve ektodermal hücreler arasında yayılır ve sarı ile temas halinde olan, besin alımında bir yer alan epitel hücre tabakasını oluşturur. Son olarak, mezodermal hücreler, eritropoezin yeri olan ektodermal ve endodermal katmanlar arasında hareket ederler (Clement ve ark., 2017). Endodermal tabaka yumurta sarısı ile yakın temas halindedir ve yüzey alanını artıran villus benzeri yapılar içerir. Sarı kesesi endodermal epitel hücrelerinin yüzeyinde, yumurta sarısı kullanımı için yüzey alanını artıran mikrovilluslar bulunur (Mobbs ve McMillan, 1979). Bu mikrovilluslar morfolojik ve işlevsel olarak bağırsak epitel hücreleri üzerindeki mikrovilluslara benzerlik gösterir. Kuluçkanın 15. gününde endodermal epitel hücrelerinin yüzey alanının genişlediği ve mikrovillus yapılarının oluşmaya başladığı gözlenmiştir. Kuluçkanın 19. gününde endodermal epitel hücrelerinin boyutu küçülmeye başlarken, mikrovilluslar esas olarak hücre yüzeyinin kenarlarında bulunur. Kuluçkanın 21. gününde ise mikrovilluslar tüm hücre yüzeyini kaplamaktadır. Endodermal epitel hücreleri, bağırsak epitel hücreleri arasındaki sıkı bağlantılara benzer bir bariyerle bağlanır. Sarı kesesi dokusu bağırsağın orta kısmından geliştiği için bu doku bağırsak dokusu ile bazı benzer morfolojik özellikler göstermektedir (Patten, 1971). Sarı kesesinin enine kesiti incelendiğinde merkezi kan damarını çevreleyen endodermal epitel hücrelerini içerdiği görülmektedir. Sarı kesesi endodermal epitel hücreleri, besin maddelerinin emiliminde, enzimlerin ve hormonların salgılanmasında rol oynayan çok işlevli hücrelerdir.



**Şekil 1.** Sarı kesesi endodermal epitel hücrelerinin (EEC) morfolojik yapısının elektron mikrografları. (1.A; 4.A) Embriyonel gelişimin 15. gününde endodermal epitel hücrelerinin yüzey alanları genişler ve mikrovillus yapıları oluşmaya başlar. (2.A; 5.A) Embriyonel gelişimin 19. gününde endodermal epitel hücreleri yüzeyinin çevresinde mikrovillus belirirken boyut olarak küçülmeye başlar. (3.A; 6.A) Embriyonel gelişimin 21. gününde endodermal epitel hücre tabakası daha küçüktür ve mikrovilluslar tüm hücre yüzeyini kaplar (Dayan, 2019; Wong ve Uni, 2020).

Sarı kesesi dokusu morfolojik olarak;

Mezodermal tabakayı içermeyen ve dolayısıyla kan damarlarını içermeyen vitellina alanına;

Mezodermal tabakayı, kan hücrelerini ve kan damarlarını içeren vasküloza alanına ayrılabilir.

Kuluçkanın 2. gününden 6. gününe kadar, vasküloza ve vitellina yüzey alanı hızlı bir genişleme gösterir. Kuluçkanın 6. gününden sonra, vasküloza alanının yüzey alanı kuluçkanın 12. gününe kadar artmaya devam ederken, vitellina alanının yüzey alanı azalır (Romanoff, 1960). Sarı kesesi dokusunun ağırlık ve yüzey alanı kuluçkada embriyonel gelişimin 15 ve 17. gününde en yüksek düzeye ulaşmakta ve ardından kuluçkadan çıkış dönemi yaklaştıkça azalmaktadır (Yadgary ve ark., 2013).

Embriyonun besin madde ihtiyaçlarına göre sarı kesesi dokusu sürekli olarak kuluçka dönemi boyunca değişim gösterir (Romanoff, 1960). Kuluçkanın 5. ve 10. günleri arasında sarı kesesi ağırlığı 0,19 gramdan 1,44 grama artış göstermektedir (Yadgary ve ark., 2013). Kuluçkanın 10. günleri ve 15. günleri arasında mikro kıvrımlara bağlı olarak sarı kesesi ağırlığı 1,44 gramdan 6,44 grama artış gösterirken, kuluçkanın 15. günleri ve 21. günleri arasında sarı kesesi ağırlığı 6,44 gramdan 3,84 grama düşüş göstermektedir (Yadgary ve ark., 2013). Kuluçkanın son 2-3 günlük döneminde embriyonun artan besin madde ihtiyaçlarına rağmen sarı kesesi membranının emilim yüzeyi azalır (Yadgary et al., 2011). Sarı kesesinin emilim alanında gözlenen düşüğe rağmen kuluçkanın 17. ve 20. günleri arasındaki lipit içeriğini etkilenmez. Kuluçkanın son döneminde sarı kesesinde bulunan lipitlerin emiliminde, sindirimde ve enzimlerin salgılanmasında artış gözlenmektedir (Yadgary ve ark., 2013). Bu durum sarı kesesinin embriyonun karın boşluğuna çekilmesi ile ilişkilidir (Romanoff, 1960).

Sarı kesesinden gelen besinlerin embriyo tarafından kullanımı, embriyonun besin ihtiyaçlarından ve sarı kesesinin besin içeriğinden (yağ, protein, su, karbonhidrat ve mineral miktarı) etkilenir. Kuluçka sırasında sarı kesesinde meydana gelen morfolojik, metabolik ve moleküler değişikliklere bağlıdır. Bunlar arasında aşağıdakiler bulunmaktadır:

Endodermal yüzey alanının gelişimi ve ayrıntılı villus benzeri kıvrımların oluşumu gibi yapısal değişiklikler (Romanoff, 1960),

Sarı kesesi dokusunda sindirim süreçlerindeki ve lipoproteinlerin reseptör aracılı endositozu ve amino asitler için taşıyıcılar gibi sarı kesesinden embriyoya besin taşınmasını kontrol eden mekanizmalardaki değişiklikler (Hermann ve ark., 2000; Yadgary ve ark., 2011).

Kanatlılarda embriyonel büyüme ve gelişim yumurta besin içeriğine bağlıdır (Yadgary ve Uni, 2011). En yüksek katı yoğunluğu yumurta sarısında bulunur (%48; Romanoff ve Romanoff, 1949). Yumurta sarısı lipitleri, kuluçkanın ikinci yarısında ve kuluçka sonrası erken dönemde başlıca enerji kaynağıdır. Embriyo ve civciv tarafından üretilen toplam enerjinin %90'ından fazlası yumurta sarısı lipidlerinin oksidasyonundan kaynaklanır (Sato ve ark., 2006). Bu nedenle yumurta sarısının boyutu ve bileşimi, embriyonik büyüme ve gelişim için mevcut enerji kaynağıdır (Noble ve Cocchi, 1990).

Besin maddelerinin sindirimi ve taşınmasındaki değişiklikler, vücut için ana enerji kaynağı olan yağın sindirimi ve taşınması büyük önem taşımaktadır. Civciv embriyosunun oluşumunda, anne karaciğeri kaynaklı lipoproteinler (çok düşük yoğunluklu lipoproteinler) hidrolize edilerek ardından kana ekzositoz edilir ve embriyonik dokulara aktarılır (Powell ve ark., 2004).

Damızlık yaşı ve yumurta büyüklüğü yumurta içeriğini etkilemektedir (Wagt ve ark., 2020). Besinlerin sarı kesesinden embriyo tarafından emilimi damızlık yaştan etkilenir (Yadgary ve ark., 2010). Damızlık tavuklar yaşlandıkça yumurta sarısındaki ağırlık artışı nedeniyle yumurta ağırlığı artar (Nangsuay ve ark., 2011; Traldi ve ark., 2011).

Yumurta sarısındaki yağ asitlerinin yüzdesi damızlık sürünün yaşına bağlı olarak değişmektedir (Şahan ve ark., 2014). 30 haftalık damızlık tavuk yumurtaları %71 ak ve %29 sarı içerirken, 50 haftalık damızlık tavuk yumurtaları %66 ak ve %34 sarı içermektedir. 30 haftalık yaştaki damızlık tavuk yumurta sarısı %55 su, %24 yağ ve %18 protein içerirken, 50 haftalık damızlık tavuk yumurta sarısı %53 su, %27 yağ ve %16 protein içermektedir (Yadgary ve ark., 2010). Buna bağlı olarak, yaşlı damızlık sürülerden elde edilen yumurtalar daha fazla besin maddesi içerebilmektedir. Nangsuay ve ark. (2011), yaşlı damızlık sürü yumurtalarından elde edilen embriyo ve civcivlerde kuluçkanın 18. gününde ve kuluçkadan çıkışta sarı kesesi emiliminin genç sürülerden daha yüksek olduğunu belirlemiştir.

Yumurta sarısı, civciv embriyosunun gelişimi sırasında ana enerji lipid kaynağıdır (yağ asidi oksidasyonu yoluyla). Yumurta sarısında bulunan dört ana yağ asidi palmitik (16:0) asit, stearik (18:0) asit, oleik (18:1n-9) asit ve linoleik (18:2n-6) asittir. Yumurta sarısında en bol bulunan lipoprotein, yumurta sarısının kuru maddesinin yaklaşık %66'sını oluşturan çok düşük yoğunluklu lipoproteindir (VLDL), buna karşın kolesterol toplam yumurta sarısı lipidlerinin yaklaşık %5,2'sini oluşturur. Uzun zincirli çoklu doymamış yağ asidi dokosaheksaenoik asit (22:6) kuluçkanın 15. ve 19. günleri arasında sarı kesesinden hızla emilir (Maldjian ve ark., 1995; Yadgary ve ark., 2014). Dokosaheksaenoik asit, beyin ve retinanın gelişiminde etkilidir (Anderson ve ark., 1990). Asilkoenzim A: kolesterol asiltransferaz (ACAT), lipid kullanımını kolaylaştırmak için kolesterolün uzun zincirli bir yağ asidi ile esterleşmesini sağlamaktadır. Kuluçkanın son 7 gününde başlıca dokosaheksaenoik asit hızlı bir şekilde emilir.

Yumurta sarısı lipidlerinin sarı kesesi ile emilimi spesifik olmayan fagositoz yoluyla gerçekleşir. Sarı kesesi tarafından üretilen lipolitik enzimler, yumurta sarısı içeriğini parçalar (Dzoma ve Dorrestein, 2001), bu enzimatik aktivitenin ürünleri emilir, hidrolize edilir ve çok düşük yoğunluklu lipoprotein parçacıklarına dönüştürülerek geniş kan damarları ağı yoluyla embriyonik dolaşıma aktarılabilir (Speake ve ark., 1998).

### **Sarı Sapı**

Yumurta sarısı sapı, sarı kesesi ile embriyo jejenumunu birbirine bağlayan dar bir geçittir (Dzoma ve Dorrestein, 2001). Kuluçka döneminin başlangıcında, bağırsaktan sarı kesesine açılan açıklık, kısa ve dar bir oluşumdur. Kuluçkanın 6. gününde yumurta sarısı sapı, amniyonun boynu olan dış veya somatik sapın içine alınır. Yumurta sarısı sapı, kuluçkanın 16. ve 20. günleri arasında maksimum 3.0 mm ile 4.0 mm uzunluğa kadar gelişebilir (Virchow, 1891). Sarı sapının lümeninde, bağ dokusu tabakası villus benzeri kıvrımlar meydana getirir (Barri, 2008). Yumurta sarısı sapı, bir dış katman ve bir iç katmandan oluşur; dış katman veya somatik sap, embriyo ile amniyonu birbirine bağlar ve iç katman veya yumurta sarısı sapı, embriyo ile yumurta sarısı kesesini birbirine bağlar (Romanoff, 1960). Yumurta sarısı sapı proksimal uçta ince bağırsağa açılan bir açıklığa sahiptir (Noy ve ark., 1996). Kuluçkanın 18. gününden sonra ve erken postnatal dönemde, yumurta sarısı sapı, yumurta sarısı içeriğinin bağırsaklara taşınmasına yardımcıdır. Yumurtadan yeni çıkmış veya 3 günlük yaşta dönemde civcivlerde sarı içeriği sarı sapının lümeni yoluyla bağırsaklara geçebilmektedir (Esteban ve ark., 1991).

### **Kanatlılarda sarı kesesinin multifonksiyonel rolü**

Kanatlılarda embriyo gelişimi yumurta sarısı, albümin ve yumurta kabuğundan elde edilen besin kaynaklarından sağlanır. Sarı kesesi dokusu, besin emiliminde önemli rol oynayan, çoklu metabolik işlevleri yerine getiren ve yumurta sarısındaki patojenlere karşı ilk savunma hattı olarak işlev gören bir dokudur. Gelişmekte olan embriyoda birçok organın fonksiyonel olması için bu süreçte sarı kesesi dokusu farklı işlevlerde görevlidir.

Kuluçka sürecinin yaklaşık 15. gününde bağırsak ve karaciğer gelişimi, 10. gününde tiroid gelişimi ve 14. gününde eritropoez için kemik iliği olgunlaşması başlar (Freeman ve Vince, 1974). Sarı kesesi dokusu, kan hücrelerinin sentezi için kemik iliği, besinlerin ve lipidlerin sindirimi ve taşınması için bağırsak, plazma taşıyıcı proteinlerin ve karbonhidrat metabolizmasının üretimi için karaciğer, metabolizmanın düzenlenmesi için tiroid ve antikorların transferi ve antimikrobiyel peptidlerin üretimi için bağışıklık sistemi şeklinde görev alır.

Sarı kesesi dokusunun fonksiyonel özellikleri erken ve geç embriyogenez döneminde oluşur. Embriyonel gelişimin 19. gününde başlayarak sarı kesesi karın boşluğuna çekilir ve yumurtadan çıkmadan yaklaşık 14 saat önce emilimi tamamlanır (Freeman ve Vince, 1974). Kuluçkanın son döneminde sarı kesesi dokusu civcivin vücut boşluğuna çekilmeden önce bozulma sürecinden geçer. Sarı kesesi içeriğinin emiliminde yetersizlik, gerekli besinlerin ve maternal antikorların alımında eksikliğe yol açarak erken civciv ölümlerine ve düşük civciv kalitesine neden olabilir.

Düşük kuluçka sıcaklığı yumurta sarısından yararlanmayı olumsuz etkileyebilir. Nangsuay ve ark. (2016), kuluçkada 38.9°C sıcaklık uygulamasının 37.8°C kuluçka sıcaklığına göre yumurta sarısı kullanımını azalttığını belirlemişlerdir. Dayan ve ark. (2020), 37.8°C kuluçka sıcaklığında etlik piliç embriyolarında sarı kesesi kalıntısının kuluçkanın 15. gününden 21. gününe kadar %71.7'lik bir düşüş

gösterdiğini, 36.6°C ve 39.3°C kuluçka sıcaklığında ise etlik piliç embriyolarının sırasıyla %63.8 ve %37.2'lik bir düşüş belirlendiğini bildirmişlerdir.

#### KAYNAKLAR

- Anderson, G. J., Connor, W.E., Corliss, J.D. 1990. Docosaehaenoic acid is the preferred dietary n-3 fatty acid for the development of the brain and retina. *Pediat. Res.* 27:89–97.
- Barri, A. 2008. Effects of Incubation Temperature and Transportation Stress on Yolk Utilization, Small Intestine Development, and Posthatch Performance of High-Yield Broiler Chicks. PhD thesis. Virginia Polytech. Institut. State Univ., Virginia, USA.
- Burley, R.W., Vadehra, D.V. 1989. *The Avian Egg, Chemistry and Biology* (Toronto, John Wiley and Sons).
- Clement, R., Mauroy, B., Cornlissen, A.J.M. 2017. Tissue growth pressure drives early blood flow in the chicken yolk sac. *Dev. Dyn.* 246:573–584.
- Dayan, J. 2019. Chicken Embryos Yolk Sac Tissue Development and Function during Incubation. MS Thesis. The Hebrew University of Jerusalem, Rehovot, Israel.
- Dayan, J., Reicher, N., Melkman-Zehavi, T., Uni, Z. 2020. Incubation temperature affects yolk utilization through changes in expression of yolk sac tissue functional genes. *Poult. Sci.* 99:6128-6138.
- Dzoma, B. M., Dorrestein, G.M. 2001. Yolk sac retention in the ostrich (*Struthio camelus*): histopathologic, anatomic, and physiologic considerations. *J. Av. Med. Surg.* 15:81–89.
- Esteban, S., Rayo, J.M., Moreno, M., Sastre, M., Rial, R.V., Tur, J.A. 1991. A role played by the vitelline diverticulum in the yolk sac resorption in young post-hatched chickens. *J. Comp. Physiol. B.* 160:645–648.
- Freeman, B. M., Vince, M.A. 1974. *Development of Avian Embryo*. Chapman and Hall Co., London, England.
- Gous, R.M. 2010. Nutritional limitations on growth and development in poultry. *Livest. Sci.* 130: 25-32.
- Hermann, M., Mahon, M.G., Lindstedt, K.A., Nimpf, J., Schneider, W.J. 2000. Lipoprotein receptors in extraembryonic tissues of the chicken. *J. Biol. Chem.* 275:16837–16844.
- Hill, D. 2001. Chick length uniformity profiles as a field measurement of chick quality. *Avian Poultry Biology Reviews*, 12.188 (Abstr).
- Maldjian, A., Farkas, K., Noble, R.C., Cocchi, M., Speake, B.K. 1995. The transfer of docosaehaenoic acid from the yolk to the tissues of the chick embryo. *Biochim. Biophys. Acta* 1258:81–89.
- Mikec, M., Bidin, Z., Valentic, A., Savic, V., Zelenika A.T., Raguz-Duric, R., Lukae Novak, I., Balenovic, M. 2006. Influence of environmental and nutritional stressors on yolk sac utilization, development of chicken gastrointestinal system and its immune status. *World's Poult. Sci. J.* 62:31–40.
- Mobbs, I. G., McMillan, D.B. 1979. Structure of the endodermal epithelium of the chick yolk sac during early stages of development. *Am. J. Anat.* 155:287–310.
- Molenaar, R., Reijrink, I. A. M., Meijerhof, R., Brand, H. V. D. 2008. Relationship between hatchling length and weight on later productive performance in broilers. *World's Poultry Science Journal* Vol. 64.
- Nangsuay, A., R. Meijerhof, I. van den Anker, M. J. W. Heetkamp, V. De Souza Morita, B. Kemp, and H. van den Brand. 2016. Effects of breeder age, strain, and eggshell temperature on nutrient metabolism of broiler embryos. *Poult. Sci.* 95:1666–1679.
- Nangsuay, A., Y. Ruangpanit, R. Meijerhof, Attamangkune, S. 2011. Yolk absorption and embryo development of small and large eggs originating from young and old breeder hens. *Poult. Sci.* 90:2648–2655.

- Noble, R. C., Cocchi, M. 1990. Lipid metabolism and the neonatal chicken. *Prog. Lipid Res.* 29:107–140.
- Noy, Y., Uni, Z., Sklan, D. 1996. Routes of yolk utilisation in the newly-hatched chick. *Br. Poult. Sci.* 37:987–995.
- Patten, B. M. 1971. *Early Embryology of the Chick*. 5th ed. McGraw- Hill Inc., New York.
- Powell, K. A., Deans, E.A., Speake, B.K. 2004. Fatty acid esterification in the yolk sac membrane of the avian embryo. *J. Comp. Physiol. Part B Biochem. Systemic Env. Physiol.* 174:163-168.
- Romanoff, A. L. 1960. *The Avian Embryo: Structural and Function Development*. Macmillan Co., New York, U.S.A.
- Romanoff, A. L., Romanoff, A.J. 1949. *The Avian Egg*. John Wiley and Sons, New York, U.S.A.
- Sato, M., Tachibana, T., Furuse, M. 2006. Heat production and lipid metabolism in broiler and layer chickens during embryonic development. *Comp. Biochem. Physiol. Part A: Mol. Integr. Physiol.* 143:382–388.
- Speake, B. K., Murray, A.M., Noble, R.C. 1998. Transport and transformations of yolk lipids during development of the avian embryo. *Prog. Lipid Res.* 37:1-32.
- Torres, C. A, Korver, D.R., Hamidu, J.A. 2012. Effect of incubator temperature and parent flock age on chick bone characteristics at hatch. *WPC2012*, 5–9 August. Salvador, Brazil, World’s Poult. Sci. J. Suppl. 1, Exp. Abstr.
- Traldi, A. B., Menten J.F.M., Silva, C.S., Rizzo, P.V., Pereira, P.W.Z., Santarosa, J. 2011. What determines hatchling weight: breeder age or incubated egg weight? *Braz. J. Poult. Sci.* 13:283-285.
- Turro-Vincent, I., Nitsan, Z., Picard, M., Dunnington, E., Siegel, P. 1994. Removal of residual yolk at hatch influences food choice and feeding activity in lines of chickens selected for high or low juvenile body weight. *Reprod. Nutr. Dev.* 34:449–460.
- Şahan, U, Ipek, A, Sozcu, A. 2014. Yolk sac fatty acid composition, yolk absorption, embryo development, and chick quality during incubation in eggs from young and old broiler breeders. *2014 Poultry Science* 93:2069–2077.
- Ulmer-Franco, A. M., Fassenko, G.M., O’Dea Christopher, E.E. 2010. Hatching egg characteristics, chick quality, and broiler performance at 2 breeder flock ages and from 3 egg weights. *Poult. Sci.* 89:2735–2742.
- Virchow, H. 1891. *Der Dottersack des Huhnes*. Hirschwald, Berlin, Germany.
- Wagt, I., Ingrid, J., Mitchell, M.A., Molenaar, R., Brand, H. 2020. A review on yolk sac utilization in poultry. *Poultry Science*.
- Wong, E.A., Uni, Z. 2020. The chicken yolk sac is a multifunctional organ. *Poultry Science* 100(3).
- Yadgary, L., Cahaner, A., Kedar, O., Uni, Z. 2010. Yolk sac nutrient composition and fat uptake in late-term embryos in eggs from young and old broiler breeder hens. *Poult. Sci.* 89:2441–2452.
- Yadgary, L., Wong, E.A., Uni, Z. 2014. Temporal transcriptome analysis of the chicken embryo yolk sac. *BMC Genomics* 15:690.
- Yadgary, L., Kedar, O., Adepeju, O., Uni, Z. 2013. Changes in yolk sac membrane absorptive area and fat digestion during chick embryonic development. *Poult. Sci.* 92:1634-1640.
- Yadgary, L., Yair, R., Uni, Z. 2011. The chick embryo yolk sac membrane expresses nutrient transporter and digestive enzyme genes. *Poult. Sci.* 90:410-416.

**FARKLI ORANLARDA TRİTİKALE VE MACAR FİĞİ KARIŞIMLARININ SİLAJ  
KALİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

**DETERMINATION OF SILAGE QUALITY IN MIXTURES OF TRITICALE AND  
COMMON VETCH AT DIFFERENT INCLUSION RATES**

**Tarkan ŞAHİN<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Prof.Dr., Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları AD,  
Kars, Türkiye.

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0155-2707>

**Tuğçe Merve BERBEROĞLU<sup>2</sup>**

<sup>2</sup> Arş.Gör. Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları AD,  
Kars, Türkiye.

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8975-6653>

**Benian YILMAZ<sup>3</sup>**

<sup>3</sup> Doktora Öğrencisi, Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme  
Hastalıkları AD, Kars, Türkiye.

<sup>3</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2652-8412>

**Ebrar FİLİZOĞLU<sup>4</sup>**

<sup>4</sup> Doktora Öğrencisi, Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme  
Hastalıkları AD, Kars, Türkiye.

<sup>4</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7383-3562>

**Mükremin ÖLMEZ<sup>5</sup>**

<sup>5</sup> Dr. Öğr. Üyesi, Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları  
AD, Kars, Türkiye.

<sup>5</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5003-3383>

**ÖZET**

Tek yıllık baklagiller ile tahılların karışık ekilmesi ve silajlık olarak kullanılması gittikçe yaygın hale gelmektedir. Tritikale (*Triticosecale Wittmack*) ve Macar fiği (*Vicia pannonica L.*) bitkileri yalın ve üç farklı oranda (75:25, 50:50 ve 25:75) karıştırılıp silaj yapılarak kuru madde (KM), ham protein (HP), nötral deterjan fiber (NDF), asit deterjan fiber (ADF), pH ve fleig puan değerleri belirlenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre; en yüksek KM oranının yalın tritikale silajında (%100T) olduğu tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). Silajın fiğ içeriği arttıkça HP oranının yükseldiği ve gruplar içerisinde en yüksek HP içeriğinin yalın fiğ (%100 Fiğ) silajında olduğu bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Silajın selüloz sindirilebilirliğini belirleyen kriterlerden NDF ve ADF oranları incelendiğinde ise; en yüksek NDF içeriğinin %100T ve %75T+%25F silajlarında ( $p<0,05$ ), ADF içeriğinin ise %100T silajında en yüksek olduğu ( $p<0,05$ ) tespit edilmiştir. Silaj pH'sı fiğ içeriğinin silajdaki oranının artmasıyla doğru orantılı olarak yükseldiği ve en düşük pH %100T silajında; en yüksek pH ise %100F silajında ölçülmüştür ( $p<0,05$ ). En yüksek fleig puanı ise %100T silajından elde edilmiştir. Silaja fiğ ilavesi artması çalışılan silaj kalite kriterleri üzerine olumlu etki göstermiştir. Bu çalışma sonuçları; tahıllara fiğ ilavesinin kaba yem ağırlıklı besleme yapılan işletmelerde besleyici değeri daha yüksek kaba yem kaynaklarının kullanılmasını teşvik edecektir. Ayrıca bu çalışma ışığında gelecekte farklı tahıl kaynaklarıyla oluşturulan silajların araştırılması ve in vivo denemelerin yapılması öngörülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Fiğ, pH, Silaj, Tritikale.

## ABSTRACT

The practice of intercropping annual legumes and cereals and their use as silage is becoming increasingly popular. In this study, Triticale (X Triticosecale Wittmack) and Common vetch (*Vicia pannonica* L.) were used solitary and mixed at three different ratios (75:25, 50:50 and 25:75) respectively to make silage, and the dry matter (DM), crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), pH and Fleig score values were determined. Based on the study results; the highest DM ratio was found in pure triticale silage (100%T) ( $p<0.05$ ). As the content of vetch increased in the silage, the CP ratio increased and the highest CP content was found in pure vetch (100% Vetch) silage ( $p<0.05$ ). When the NDF and ADF ratios, which determine the digestibility of cellulose in silage, were examined; the highest NDF content was found in 100%T and 75%T+25%V silages ( $p<0.05$ ), and the highest ADF content was found in 100%T silage ( $p<0.05$ ). The pH of the silage increased in proportion to the increase in the proportion of vetch in the silage, and the lowest pH was measured in 100%T silage; the highest pH was measured in 100%V silage ( $p<0.05$ ). The highest Fleig score was obtained from 100%T silage. The addition of vetch to the silage had a positive effect on the studied silage quality parameters. The findings of this study indicate that incorporating vetch with cereal crops can enhance the nutritional value of roughage sources for farms that primarily utilize roughage for feeding, thereby promoting their utilization. Additionally, in light of this study future research should be planned to investigate silages made from different cereal sources and to conduct in vivo trials.

**Keywords:** Common vetch, pH, Silage, Triticale.

## 1. GİRİŞ

Kaliteli kaba yemler ruminant hayvanların beslenme gereksinimlerini karşılayarak süt ve et gibi hayvansal ürünlerin elde edilmesini sağlamaktadır. Ancak, Türkiye’de çayır-mera alanlarının kalitesinin düşmesi ve uzun kış mevsiminden dolayı artan kaba yem ihtiyacı hayvansal üretimin en önemli sorunlarından (Tan ve Yolcu, 2021). Yeşil ve özsu bakımından zengin çayır otları ile baklagil ve buğdaygil yem bitkilerinin hasat döneminde silolanarak muhafaza edilmesi ucuz ve besleyici bir beslenme programı hazırlanmasına ve kaba yem açığının azaltılmasında en iyi alternatifler arasındadır (Akdeniz ve ark. 2004). Silaj, %50’den daha fazla su içeriğine sahip bitkinin anaerob koşullarda fermente edilmesiyle üretilmektedir (Ölmez ve ark. 2020). Böylece hasattan depolamaya kadar olan süreçte bitkinin besin madde kaybı kuru ota göre minimum olmaktadır (Okoye ve ark. 2022). Nemli bölgelerde otlarının kurutulması ve muhafazasının zor olmasından dolayı silaj iyi bir alternatif olarak görülmektedir. Silajın hayvanlar tarafından iştahla tüketilmesi de diğer avantajlarından (Lara ve ark. 2018).

Başlıca mısır olmakla birlikte buğdaygil bitkilerinden, baklagil yem bitkilerine göre daha kolay ve kaliteli silaj elde edilmektedir. Mısır silajı; yüksek enerji içeriği, hayvanlar tarafından sevilerek tüketilmesi, diğer silajlara göre yapım maliyetinin daha düşük olması ile silajlık yem bitkilerinde en çok tercih edilen silajdır (Konca ve ark. 2005).

Baklagil yem bitkilerinde suda eriyebilir karbonhidrat miktarının yeterince olmaması ve buffer kapasitenin yüksek olması zor silolamaya neden olmaktadır. Buğdaygil bitkilerinden baklagil yem bitkilerine göre daha kolay ve kaliteli silaj elde edilmektedir (Öten ve ark. 2016). Son dönemlerde özellikle tarım teşvikleriyle birlikte buğdaygil ve baklagil bitkilerinin birlikte ekimleri artmaktadır. Bu karışık ekimlerden elde edilen silajların da besleyici değeri yüksek bir alternatif yem kaynağı imkanı sağlamaktadır (Turan ve Seydoşoğlu, 2021). Baklagillerin tahıllarla birlikte kullanılması ile silajın kuru madde ve ham protein miktarını arttırarak istenilen özellikte ürün elde edilebilmektedir (Maxin ve ark. 2017). Baklagiller protein bakımından, buğdaygiller ise enerji bakımından zengindir. İkisinin birlikte kullanılması ile elde edilen silajlar hayvanların besin madde gereksinimi karşılaması, yeterli ve dengeli beslenmesi için önemlidir. Bu bağlamda iki yem bitki türlerinin karıştırılması ile silajın besin değeri arttırılarak hayvanlara enerji ve protein bakımından dengeli rasyonlar sunulmaktadır (Görü ve Seydoşoğlu, 2021). Yapılan bir çalışmada farklı seviyelerde baklagil ve buğdaygil bitkileri karışımından elde edilen silajlarda; baklagil oranı daha fazla olan silajların ham protein miktarının ve pepsin-selülaz sindirilebilirliğinin daha yüksek olduğu bildirilmektedir (Maxin ve ark. 2017). Görü ve Seydoşoğlu (2021), yaptıkları çalışmada bazı buğdaygil bitkilerini (arpa, çavdar, yulaf, tritikale) fiğ ile farklı

oranlarda karıştırarak bazı kalite değerlerini belirlemişlerdir. Deneme sonunda daha fazla fiğ içeren karışımlarda daha yüksek ham protein ve daha düşük ADF ve NDF değerleri tespit etmişlerdir. Karadeniz ve ark. (2020) ise farklı oranlarda karıştırdıkları mürdümük ile tritikale bitkisi silajından en iyi sonuçları %80 mürdümük + %20 tritikale karışımından elde ettiklerini ifade etmişlerdir. Yapılan çalışmalarda buğdaygillerin baklagillerle birlikte kullanılması ile silajın protein miktarını arttırdığı, silaj verim ve kalitesinde artış görüldüğü ifade edilmektedir (Kavut ve Geren 2017; Gümüştas ve Turan 2022).

Bu çalışma, ülkemizde en çok silaj yapımında kullanılan mısır bitkisine alternatif olarak bazı yörelerde bitki varlığına göre buğdaygil ve baklagil bitkilerinin karıştırılarak daha iyi kalitede silaj ürünlerin elde edilmesini ve ruminantların kaliteli kaba yem tedarikini teşvik etmesi amacıyla yürütülmüştür. Bu amaçla, tritikale ve fiğ bitkileri ile farklı oranlarda karıştırılması ile elde edilen silajların kalite kriterlerinin belirlenmesi araştırılmıştır.

## 2. MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada, bitki metaryali olarak Temmuz 2021'de Kars/Selim ilçesinde özel bir işletmede ekimi yapılan tritikale (*Triticosecale Wittmack*) ve macar fiği (*Vicia pannonica L.*) kullanılmıştır. Silaj oluşturan bitkilerden tritikale hamur olum döneminde, macar fiği ise çiçeklenme başlangıcında hasat edilmiştir. Elde edilen tritikale ve fiğ bitkileri laboratuvar koşullarına tabi tutulup direkt güneş ışığı almayacak şekilde soldurulduktan sonra elle 2,5-3 cm uzunluğunda parçalar halinde doğranmıştır. Düz bir zemine ayrı olarak serilen bitkiler farklı oranlarda karıştırılarak her biri 5 tekerrürlü 5 ana gruba (100:0, 75:25, 50:50, 25:75 ve 0:100) ayrılmıştır. Karışımlar yaklaşık 500 g numune özel vakum poşetlerinde, vakum cihazı ile (Vestel, Model no:20244205) iyice sıkıştırılmıştır. Belirtilen karışımlarla hazırlanan vakum poşetleri 60 gün boyunca etüvde ( $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) fermentasyona bırakılarak muhafaza edilmiştir. Deneme süresinde vakum poşetleri haftalık kontrol edilerek olası bir sorun olmaması için yakından takip edilmiştir. Deneme sonunda açılan silaj poşetleri analize hazırlanmıştır.

### 2.1. BESİN DEĞERLERİ ANALİZİ

Farklı gruplara göre hazırlanmış silaj poşetlerindeki numunelerin tane boyutu analizde kullanılmak üzere küçültülmüştür. Kuru madde (KM), ham protein (HP) analizleri Weende analiz sistemine göre yapılmıştır (Kitcherside ve ark, 2000). HP oranı, Kjeldahl yöntemi ile belirlenen azot içeriği 6.25 ile çarpılarak hesaplanmıştır. Numunelerin asit detarjan fiber (ADF) ve nötr detarjan fiber (NDF) analizi Van Soest yöntemine göre yapılmıştır (Goering & Van Soest, 1970). Kuru madde oranı, silajdan 200 gr örnek alınarak  $65^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat etüvde kurutulduktan sonra hassas terazide tartılmıştır. Kurutulduktan sonraki tartım ağırlığı ile 200 gr yaş ağırlığına oranlanarak kuru madde oranı (%) belirlenmiştir (Bulgurlu ve Ergül, 1978). Silajın diğer kimyasal özelliklerinden pH tespiti için her bir silaj poşeti grubundan 25 gr silaj numunesi ve 100 ml distile su 10 dakika karıştırıcıda karıştırıldıktan sonra pH metre (Hanna Instruments, ABD) ile ölçülmüştür (Chen 1994). Silajların pH ve kuru madde içeriği silaj fleig puanı formülüne göre hesaplanarak yem kalitesi belirlenmiştir. Kılıç (1986)'ın belirttiği yöntemle göre (Fleig puanı =  $220 + (2 \times \% \text{ Kuru madde} - 15) - 40 \times \text{pH}$ ) fleig puanı hesaplanmıştır.

Araştırmadan elde edilen veriler SPSS 20.0 paket programı kullanılarak, Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) metoduyla analiz edilmiştir. Silaj gruplarının karşılaştırılmasında Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır.

## 3. SONUÇ

Silaj gruplarına ait besin maddesi analiz sonuçları Tablo 1'de sunulmuştur. Triticale ve fiğ ile bunların %25, %50 ve %75 oranlarında karıştırılmasıyla elde edilen ürünlerin kimyasal özelliklerine bakıldığında istatistiksel farklılıkların olduğu belirlenmiştir. Silajların kimyasal özellikleri değerlendirildiğinde; pH değerlerine bakıldığında yalın hazırlanan tritikale silajında en düşük pH elde edildiği ve fiğ ilavesi oranı arttıkça pH değerinin arttığı görülmektedir ( $p < 0,05$ ). Silaj kuru madde oranı ise yalın tritikale silajında diğer çalışma gruplarına göre daha yüksek olduğu ( $p < 0,05$ ) ve fiğ karışım oranının artmasıyla birlikte azaldığı tespit edilmiştir ( $p < 0,05$ ). Yalın hazırlanmış silajlarda en yüksek ham protein fiğde ( $p < 0,05$ ) elde edilirken, oransal olarak tritikale oranı arttıkça ham proteinin düştüğü belirlenmiştir. En yüksek ADF (37,43) ve NDF (55,88) oranı yalın tritikale silajından ( $p < 0,05$ ) elde edilirken, fiğ karışımının artmasıyla ters orantılı olarak azaldığı ve yalın fiğ silajında ( $p < 0,05$ ) daha düşük ADF (35,11) ve NDF



(52,83) değerleri olduğu tespit edilmiştir. Silajlar arasında en yüksek fleig puanı yalın tritikale silajında (101,34) olduğu ve karışımlar arasında fiğ oranı (%75T +%25F, %50T+ %50F, %25T +%75F) arttıkça fleig puanının 92,70, 90,47, 86,01 azaldığı belirlenmiştir. Buna göre en düşük fleig puanı ise yalın fiğ silajında (79,32) tespit edilmiştir. Tüm özellikler değerlendirildiğinde; en yüksek HP oranı, en düşük ADF ve NDF oranları yalın fiğ silajından, en düşük pH değeri, en yüksek KM ve fleig puanının ise yalın tritikale silajından elde edildiği görülmüştür.

**Tablo 1.** Farklı oranlarda karıştırılan tritikale ve fiğ silajlarının bazı kimyasal özellikleri (ortalama±SH)

Gruplar	KM	HP	ADF	NDF	pH	Fleig
%100T	29,87±0,93	11,43±0,21	37,43±0,10	55,88±0,27	4,09±0,02	101,34±1,87
%75T+%25F	27,10±1,28	12,49±0,26	36,28±0,17	54,96±0,40	4,16±0,02	92,70±3,29
%50T+%50F	25,83±0,74	13,69±0,21	36,07±0,18	53,51±0,48	4,16±0,01	90,47±1,46
%25T+%75F	24,85±0,31	17,31±0,25	35,23±0,11	53,30±0,20	4,22±0,02	86,01±1,08
%100F	22,96±0,18	18,72±0,45	35,11±0,17	52,83±0,22	4,29±0,02	79,32±0,76

T: Triticale; F: Fiğ; KM: Kuru madde; HP: Ham protein; ADF: Asit detarjan fiber; NDF: Nötral detarjan fiber

Sonuç olarak; buğdaygil ve baklagil yem bitkilerinin karışım halinde silaj yapılması ile silaj kalite kriterlerine olumlu etkileri olmuştur. Yalın tritikale silajının kuru madde oranı ve fleig puanı yüksek, pH değeri düşük olmasına rağmen HP, ADF, NDF değerleri diğer karışımdaki silajlara göre olumsuz yönde etkilendiği tespit edilmiştir. Bu bağlamda; yalın tritikale silajının yem kalite kriterlerinden fleig puanı en yüksek ancak protein oranı daha düşük olduğundan %75T+%25F ve %50T +%50F karışımdaki ürünlerin kullanılması daha dengeli kaba yemlerin hayvanlara sunulmasına olanak sağladığı söylenebilir. Tüm özellikler göz önünde bulduğunda buğdaygil ve baklagillerin birlikte kullanılmasıyla besleyici değeri daha yüksek kaba yemlerin elde edildiği görülmektedir. Böylece; yüksek kaliteli kaba yemler, hayvanların besin madde gereksinimi karşılayacak ve daha dengeli rasyonların kullanılması ile hayvansal üretime katkı sağlayacaktır.

## 5. KAYNAKLAR

- Akdeniz, H., Yılmaz, İ., Andiç, N. ve Zorer, Ş. (2004). Bazı Mısır Çeşitlerinde Verim ve Yem Değerleri Üzerine Bir Araştırma. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi, 14 (1): 47-51. Van.
- Bulgurlu, Ş., Ergül, M. (1978). Yemlerin fiziksel, kimyasal ve biyolojik analiz metotları. E.Ü. Basımevi, İzmir
- Chen, J. (1994). Effects of enzyme-inoculant systems on preservation and nutritive value of haycrop and corn silages. Journal of Dairy Science, 77(2), 501-12 doi:10.3168/jds.S0022-0302(94)76978-2.
- Goering, H. K., & Van Soest, P. J. (1970). Forage fiber analysis. Agricultural handbook no. 379. Virginia, Amerika Birleşik Devletleri: U.S. Agricultural Research Service.
- Görü, N., & Seydoşoğlu, S. (2021). Bazı Serin İklim Tahıllarının (Yulaf, Arpa, Çavdar ve Triticale) Yaygın Fiğ ile Farklı Oranlarda Karışımlarında Silaj Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi. SDU Journal of the Faculty of Agriculture/SDÜ Ziraat Fakültesi Dergisi, 16(1).
- Gümüştaş, M., & Turan, N. (2022). Bazı tahılların farklı oranlarda yem bezelyesi (Pisum sativum L.) ile karıştırılarak silaj kalitesine etkisinin araştırılması. ISPEC Journal of Agricultural Sciences, 6(1), 118-130.
- Karadeniz, E., Eren, A., & Saruhan, V. (2020). Mürdümük (Lathyrus sativus L.) ve tritikale (xTriticosecale Wittmack) karışımlarının silaj kalitesinin belirlenmesi. ISPEC Journal of Agricultural Sciences, 4(2), 249-259.
- Kavut, Y. T., & Geren, H. (2017). Farklı hasat zamanlarının ve karışım oranlarının italyan çimi (Lolium multiflorum L.)+ baklagil yem bitkisi karışımlarının verim ve bazı silaj kalite özelliklerine etkisi. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 54(2), 115-124.

- Kılıç, A. (1986). Silo Yemi (Öğretim, Öğrenim ve Uygulama Önerileri), Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü, Bilgehan Basımevi, Bornova-İzmir, 327s.
- Kitcherside, M., Glen, E. F., & Webster, A. J. F. (2000). Fibrecap: an improved method for the rapid analysis of fibre in feeding stuffs. *Animal Feed Science and Technology*, 86(1-2), 125-32.
- Konca, Y., Alçiçek, A., & Yaylak, E. (2005). Süt sığırcılığı işletmelerinde yapılan silo yemlerinde silaj kalitesinin saptanması. *Hayvansal Üretim*, 46(2).
- Lara, E. C., Bragiato, U. C., Rabelo, C. H., Messana, J. D., & Reis, R. A. (2018). Inoculation of corn silage with *Lactobacillus plantarum* and *Bacillus subtilis* associated with amylolytic enzyme supply at feeding. 1. Feed intake, apparent digestibility, and microbial protein synthesis in wethers. *Animal Feed Science and Technology*, 243, 22-34.
- Maxin, G., Andueza, D., Le Morvan, A., & Baumont, R. (2017). Effect of intercropping vetch (*Vicia sativa* L.), field pea (*Pisum sativum* L.) and triticale (X *Triticosecale*) on dry-matter yield, nutritive and ensiling characteristics when harvested at two growth stages. *Grass and Forage Science*, 72(4), 777-784.
- Okoye, C. O., Wang, Y., Gao, L., Wu, Y., Li, X., Sun, J., & Jiang, J. (2022). The performance of lactic acid bacteria in silage production: a review of modern biotechnology for silage improvement. *Microbiological Research*, 127212.
- Ölmez, M., Büyük, F., Şahin, T., & Büyük, E. (2020). The effect of wood vinegar on nutritional value and fermentation of grass silage. *Journal of advances in vetbio science and techniques*, 5(3), 90-95.
- Öten, M., Kiremitçi, S., & Çınar, O. (2016). Bazı yem bitkileri ve karışımlarıyla hazırlanan silajların silaj kalitelerinin farklı yöntemlerle belirlenmesi. *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 26(2), 33-43.
- Tan, M., & Yolcu, H. (2021). Current status of forage crops cultivation and strategies for the future in Turkey: A review. *Journal of Agricultural Sciences*, 27(2), 114-121.
- Turan, N., & Seydoşoğlu, S. (2020). Yalın ve farklı oranlarda yonca, korunga ile ryegrass hâsıllarının silaj ve yem kalitesine etkisinin araştırılması. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 7(3), 526-532.

## ROLE OF ARTIFICIAL INSEMINATION IN POULTRY: A REVIEW

Berhanu Bekele<sup>1\*</sup>, Wondmeneh Esatu<sup>2</sup>, Tadelle Dessie<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Department of Animal science, Wachemo University, Ethiopia*

<sup>2</sup>*International Livestock Research Institute, Addis Ababa, Ethiopia*

<https://orcid.org/0000-0002-6659-2382>

### ABSTRACT

This paper reviews the role of artificial insemination in poultry. Artificial Insemination (AI) was widely used with the introduction of laying cages in Israel and Australia. In USA, AI was used to improve the fertility of broilers in the same period. AI allows for incompatible individuals to mate; incompatibility arises when males are heavier than females and under natural mating this may result to injury of the females. AI involves the deposition of semen into female reproductive tract manually. It starts with the collection of the semen from the male and its evaluation in terms of motility, viability and concentration followed by its deposition into female reproductive tract. Usually, AI is extensively used with freshly collected semen due to its ease of collection and the proximity of hens in large breeding farms for insemination. Since the 1960s, AI technique has emerged as the most critical component of reproduction in turkeys, and it is used almost exclusively for commercial flock production. Artificial insemination (AI) is considered a valuable tool for the poultry industry due to the efficient utilization of males, which is difficult under natural mating. This decreases the cost of poultry production by reducing the number of cockerels needed for male gamete production. AI is gaining momentum in other poultry species. For example, as fertility in broiler breeds continues to decline as males are selected for growth, AI may become cost-effective in broiler breeder management.

**Key words:** Artificial insemination, Poultry, Fertility

### INTRODUCTION

Artificial insemination (AI) is considered a valuable tool for the poultry industry due to the efficient utilization of males, which is not possible under natural mating. This decreases the cost of poultry production directly by reducing the number of cockerels needed for male gamete production. AI was the first biotechnological tool applied to increase poultry production, as it allowed wider use of genetically superior cockerels with high productive performance (Benoff et al., 1981; Mohan et al. 2018). Pioneering efforts to establish AI as a practical procedure began in Russia in 1899 by Ivanow, who studied AI in domestic farm animals including poultry (Mohan et al. 2018). This technique was used successfully for the first time in birds almost a century ago, when Ivanov produced fertile chicken eggs using semen recovered from the ductus deferens of a cockerel. In chickens, artificial semen collection was made easier by devices developed by Ishikawa (1930). In 1935, Burrows and Quinn reported an abdominal massage technique for chickens, which was improved and referred to as 'milking the male' (Burrows and Quinn, 1937).

The technique for semen collection followed by AI was developed by Quinn and Burrows (1936). Hence, these researchers were considered the fathers of avian AI, and their basic method is still being employed in various poultry species. AI was widely used with the introduction of laying cages in Israel and Australia. In India, this technique was adopted in poultry with the introduction of the All India Coordinated Research Project on Poultry in 1975. Usually, AI is extensively used with freshly collected semen due to its ease of collection and the proximity of hens in large breeding farms for insemination. Since the 1960s, AI technique has emerged as the most critical component of reproduction in turkeys and it is used almost exclusively for commercial flock production. The differences in the size of toms (large white strains weigh approximately 33 kg) and hens (approximately 9 kg at the onset of lay) results in unsuccessful natural mating and consequent low fertilization of heavy, broad-breasted strains which

has forced the adoption of AI in commercial production (Donoghue and Wishart, 2000). AI is one of the biotechnologies that play the crucial role in poultry sector because improvement of this sector will support food security and since keeping many male chickens may cost more and also poor fertility was recorded under rural poultry farming system, AI is recommended mating system (Bekele et al. 2022).

Artificial insemination (AI) is the most widely used reproductive technology in the livestock industry. Its adoption in poultry species has increased in popularity, especially in the western countries for research and commercial purposes. AI in chicken requires one to understand the basic anatomy and physiology of the hen's and the cock's reproductive tract. AI involves the deposition of semen into female reproductive tract manually. It starts with the collection of the semen from the male and its evaluation in terms of motility, viability and concentration followed by its deposition into female reproductive tract. One must be technically competent with the semen collection and deposition procedures to achieve effectiveness in producing fertilized eggs. Males can produce semen as early as 12 weeks of age, depending upon body size and lighting program. However, sperm from such roosters is rarely viable and effective; maturity does not develop until birds are around a minimum of 18 weeks of age. So, the cocks from 22 or 24 weeks of age are used for semen collection. Semen consists of spermatozoa and seminal plasma. Fowl semen is generally highly concentrated (3 to 8 billion spermatozoa per ml for broiler fowl). The natural colour of poultry semen is white or pearly white. Heavy breed male can produce 0.75 to 1 ml semen and light breed male can produce 0.4 to 0.6 ml of semen. Chicken semen begin to lose fertilizing ability when stored >1 hour. Liquid cold (4°C) storage of chicken semen can be used to transport semen and maintain spermatozoa viability for ~6-12 hours. Semen is collected 4-6 times in a week (Sani et al. 2019; Mohan et al. 2018).

Inseminations should be carried out on two consecutive days at the first week and then once each week thereafter while fertile eggs are required. As poultry semen has a very limited life, insemination of hens should be complete within one hour of semen collection. It is a good idea to carry out the operation at the same time each day, the best time being between 2.00 and 4.00 pm. The reason for this is that during the morning, most hens have an egg in the oviduct, thus obstructing the free passage of semen to the ovary. Another point in favor of inseminating the hens in the afternoon is that it is generally cooler, and the hens are less likely to be affected by heat, particularly in late spring. Equipment needed for AI: small glass funnel with stem plugged with wax, inseminating syringe, wide mouthed glass vial, small Pyrex semen cup, large flask to hold water at 180°C to 200°C range for short time holding of semen.

### **Semen collection**

The first step in AI program is manual collection (milking) of the semen. A team of two members should be involved in semen collection, one for restraining the male and the other for collecting semen. The bird should be held in a horizontal position by a person at a height convenient to the operator who is attempting to collect the semen. To collect semen the operator should place the thumb and index finger of the left hand on either side of the cloaca and massage gently. By his right hand the operator should hold a collecting funnel and with the thumb and index finger massage the soft part of abdomen below the pelvic bones. Massage should be rapid and continuous until the cock protrudes the papilla from the cloaca. Once the papilla is fully protruded, the previously positioned thumb and index finger of the left hand are used to squeeze out the semen in to the collecting funnel. Avoid contamination of semen with faeces and feather. Semen should be evaluated after collection. Normal colour of the semen is pearly white or cream coloured. Yellow semen and semen contaminated with blood, urates, faeces or other debris should be avoided. Semen should not be allowed to come in contact with water. If debris or contaminants are observed in pooled semen, carefully aspirate contaminates from the sample before mixing with additional diluent with the semen. Diluted semen should be kept in a cooler or refrigerator (3 to 12°C) to cool down. Chicken semen begins to lose fertilizing ability when stored >1 hr. Liquid cold (4°C) storage semen can be used to transport semen and maintain spermatozoal viability for ~6-12 hr. Chicken semen may be frozen, but reduced fertility limits usage to special breeding projects (Mohan et al. 2018).

### **Frequency of semen collection**

The rate at which semen is collected determines the success of AI and the number of good quality spermatozoa is an important factor in determining fertility level (Tabatabaei, 2010; Beulah, 2017). It is

important to note that the proportion of naturally degenerating spermatozoa in the vas deferens increases with long periods between semen collections. This is because spermatozoa are reabsorbed by certain lining cells, a process termed 'vasoligation' (Mohan et al. 2018). Thus, for a consistent supply of good quality semen during the breeding season, semen should be collected from males at a particular frequency, although this varies among breeds and species. A thrice weekly frequency (alternate days) maintained the optimum output of spermatozoa, resulting in good fertility in chickens (Mohan et al. 2018), while in Pekin breeder ducks two collections per week were shown to yield better results (Bakst and Dymond 2013; Nahak et al. 2015).

### **Insemination**

All equipment to be used for insemination should be thoroughly cleaned and dried before use. Insemination must be carried out when majority of the birds have completed laying since a hard-shelled egg in the lower end of the oviduct obstructs insemination and lowers fertility. In practice, inseminating chicken after 3 pm obtained better results. It is difficult to inseminate non-laying hens. Usually, insemination is done when the flock reaches 25% egg production. Hens are inseminated twice during first week, then at weekly intervals. Under experimental conditions, fertility levels of 90% have been obtained in hens inseminated at 3-day intervals with 400–500 million frozen-thawed chicken spermatozoa. In chickens, the number of diluted semen inseminated will range from ~100–200 million sperm cells per insemination. In chickens, because of the lower spermatozoon concentration and shorter duration of fertility, 0.05mL of undiluted pooled semen, at intervals of 7 days, is required. The hen's squatting behavior indicates receptivity and the time for the first insemination. Fertility tends to decrease later in the season; therefore, it may be justified to inseminate more frequently or use more cells per insemination dose as hens' age (Tabatabaei, 2010; Bakst and Dymond 2013; Nahak et al. 2015; Beulah, 2017).

### **Procedure**

For insemination hen is held upright by the legs with the left hand down and tail tucked back and against the operator chest. The thumb of the right hand is placed against the upper lip of the vent then with rounding motion abdomen muscles are pressed, particularly on the left side. Do not squeeze with fingers but apply pressure evenly with the palm of the hand. This causes the cloaca to evert and the oviduct to protrude, the second operator inserts the syringe or plastic straw ~1 inch (2.5 cm) into the oviduct and the appropriate amount of semen is deposited at the junction of vagina and uterus. As the semen is expelled by the inseminator, pressure around the vent is released, which assists the hen in retaining sperm in the vagina or oviduct (Tabatabaei, 2010; Bakst and Dymond 2013; Nahak et al. 2015; Beulah, 2017).

### **Advantages of AI in poultry**

Some of the advantages of artificial insemination in the poultry are:

1. Normally one cockerel can be mated to six to ten hens. With artificial insemination this mating ratio could be increased fourfold. This way one male of high genetic merit for a particular trait of interest can be used to serve more females.
2. Older males having outstanding performance can be used for several generations whereas under natural mating their useful life is limited.
3. Valuable male birds having the leg injury can still be used for artificial insemination.
4. When there is poor fertility caused by preferential mating, it can be eliminated.
5. Although cross breeding is very successful under natural conditions, but sometimes there is a kind of colour discrimination as some hens will not mate with a male of a different colour unless they have been reared together. In such condition AI helps in successful cross breeding.
6. AI allows for incompatible individuals to mate; incompatibility arises when males are heavier than females and under natural mating this may result to injury of the females.
7. AI allows for better use of the cage feeding system in hatchery operations, especially when dealing with large number of females that are required to lay fertilized eggs

## CONCLUSION

The development of AI technology has resulted significant improvements in poultry production. However, AI in poultry is not common in Ethiopia; which has to held to play its role in genetic improvement, use of over weighted cocks, use of injured males and increasing the fertility.

## FEREFFRENCE

- Bekele, B., A., Melesse, Esatu, W., Dessie, T. 2022. Multivariate analysis of morphometric traits to differentiate the indigenous chicken reared under different Agro-ecologies of Ethiopia: Vet. Integ. Sci. 20(3): 775-791.
- Benoff, F.H., Rowe, K., Fuguay, J.I., Renden, J.A. and Scott, A.R. 1981. Effect of semen collector on semen volume and sperm concentration in broiler breeder males. Poultry Science 60: 1062-1065.
- Nahak AK, Giri SC, Mohanty DN, Mishra PC, Dash SK. 2015. Effect of frequency of collection on seminal characteristics of White Pekin duck. 2018. Asian Pacific Journal of Reproduction; 4(1):70-73.
- Mohan J, Kollur GI, Dhama K. History of artificial insemination in poultry, its components and significance. World's Poultry Science Journal;74(3):475-488.
- Bakst, M. R., and Dymo, J. S. 2013. Artificial Insemination in Poultry. Success in Artificial Insemination - Quality of Semen and Diagnostics Employed. doi: 10.5772/54918
- Beulah, P.V. 2017. Effect of different semen extenders on fertility of chicken spermatozoa during short term preservation. M.V.Sc Thesis, ICAR-Indian Veterinary Research Institute, India.
- Donoghue, A.M. and wishart, G.J. 2000. Storage of poultry semen. Animal Reproduction Science 62: 213-232.
- Ishikawa, H. 1930. Life duration of cock spermatozoa outside the body. Proceedings of 4th World's Poultry Congress, pp: 9.
- Soni, K., Priyanka K., Archita S. 2019. Artificial Insemination in Poultry. ICAR-Indian Veterinary Research Institute, India.
- Tabatabaei, S. 2010. The effect of spermatozoa number of fertility rate of chicken in artificial insemination programs. Journal of Animal and Veterinary Advances 9 (12): 1717-1719.

## EVALUATION OF ARTIFICIAL INSEMINATION EFFICIENCY AND OESTRUS SYNCHRONIZATION IN DAIRY CATTLE: - A REVIEW

*Berhanu Bekele<sup>1\*</sup>, Abdilgefar Kemal<sup>1</sup>, Dilgeba Aman<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Department of Animal Science, Wachemo University, Hossana, Ethiopia*

*<https://orcid.org/0000-0002-6659-2382>*

### ABSTRACT

This review was conducted to compile the information on efficiency of artificial insemination and synchronization of dairy cattle in Ethiopia. Ethiopia has a large number of livestock; 70 million cattle, 42.9 million sheep, 52.50 million goats and 57 chickens. The livestock are used for various roles and often compliment agriculture operations besides maintaining soil fertility and also help to reduce deforestation. Cattle are reared for various tangible purposes like milk, meat, hide and draft power and intangible purposes for social prestige and savings for their keeper. However, the productivity of the indigenous cattle is low due to their poor genetic makeup, low level of inputs, and poor husbandry practice. Dairy sector development in smallholder farming systems is one of the key strategically important for addressing food security and improved livelihood in developing country in particular in Ethiopia. In order to improve the low productivity of dairy cattle, selection of the most promising breeds and cross breeding of these indigenous breeds with high producing exotic cattle has been considered as a practical solution. Artificial insemination (AI) is one of the assisted reproduction technologies that increase the use of outstanding males, dissemination of superior genetic material, improve the rate and efficiency of genetic selection, introduction of new genetic material by import of semen rather than live animals. In Ethiopia, artificial insemination had been going on for nearly fifty years. However, dairy cows are mostly bred via natural mating, with some amount of assisted reproductive technology used for breeding and to improve the milk production of dairy cows. Furthermore, it is widely believed that the AI service in Ethiopia has inconsistent service, substandard nutrition; poor management and infrastructure were some of the reasons for low success rates.

**Key words:** Artificial insemination, Dairy cattle, oestrus synchronization

### INTRODUCTION

Ethiopia is home to large and diverse livestock and attractive production environments. Ethiopia has a large number of livestock; 70 million cattle, 42.9 million sheep, 52.50 million goats and 57 chickens (CSA, 2021). It should be noticeable that animal products and by-products made in the form of meat, milk, honey, eggs, cheese, and butter provide the necessary animal protein that helps to improve the nutritional status of humans (Yousuf, 2018). The livestock are used for various roles and often compliment agriculture operations besides maintaining soil fertility and also help to reduce deforestation (Debir, 2016). Cattle are reared for various tangible purposes like milk, meat, hide and draft power and intangible purposes for social prestige and savings for their keeper. However, the productivity of the indigenous cattle is low due to their poor genetic makeup, low level of inputs, and traditional husbandry practice besides environmental stress (Azage et al. 2010).

Therefore, this paper is conducted to review the efficiency if artificial insemination, mass synchronization and their constraints in dairy cattle.

Traits considered for selection of cattle

Breeders in Ethiopia prefer to select their cattle based on marketable traits such as milk production, growth rate and reproductive efficiency of heifers/cows, bulls, but traits such as coat color and adaptability are also traditionally considered. The measures of modern breeders should therefore consider adaptations for the general improvement of livestock. Hibernating cattle have traditionally grown due to the high percentage of fat in their milk (Mekonnen et al. 2012). On the contrary, (Shiferaw,

2006) reported that Kereyu cattle owners prefer to keep cattle with high milk production to consume fresh milk from the pastoral community. Similarly, (Godadaw et al. 2014 ) in a study of Fogera, Dembia and Wogera districts of Northern Amhara region found that milk production, growth rate and reproductive efficiency were the most popular traits.

#### Artificial Insemination in Ethiopia

There are various type of assisted reproductive technologies (ART) to transfer the desired genetic material, of which artificial insemination (AI) is the most commonly used technique in developing countries, including Ethiopia (FAO, 2000). National Artificial Insemination Center (today's Livestock Development Unit) is the only sperm production center in Ethiopia and mainly provides artificial intelligence service (Tegegne et al. 2010). However, artificial intelligence is used in Ethiopia moderately but with little success (Chebo and Alemayehu, 2012). The total number of artificial inseminations performed annually is up to 40,000 and approximately 50% of these artificial inseminations occur in and around Addis Ababa and Arsi. The use of artificial intelligence as a tool to improve the efficiency of livestock production (Holm et al. 2008) and the successful use of artificial insemination (AI) as a tool in breeding.

#### Conception Rate in Ethiopia

As reported by Adebabay et al. 2013 in Bahir Dar milk shed, (Hamid, 2012) in Siltie area and (Tewodro et al. 2015) in Fogera District showed average pregnancy rate of 13.7%, 42.9% and 31.29% respectively . Desalegn, 2009 reported that the average pregnancy rate in Ethiopia is 27.1%. As Samson, 2001 reported, the national average fertilization was 60%. Azage et al. 2015 reported that pregnancy rates of 60.4% and 57.7% after prostaglandin F<sub>2α</sub> injection in a smallholder farmer in Ethiopia. According to Malik et al. 2012 showed that naturally mated cows conceive earlier than AI mated cows because bulls have a natural advantage in oestrus activity and oestrus detection in cows.

#### Factors affecting success of AI in Ethiopia

The success of AI in livestock depends on several internal and external factors. Tegegne et al. 2010 indicate several reasons for ineffective AI service, such as lack of records, lack of selection criteria for bulls, lack of pedigree data, poor performance of AI technicians, problems with the state as the only AI service provider focus on genetics improvement instead of AI, and limitation to only a few cattle breeds. Unavailability of the AI service outside working days and the timely arrival of artificial insemination centers are considered as important limitations (Mekonnen et al. 2010). In addition, sperm processing procedures in Ethiopia can affect sperm quality (Delta, 2002). Conception is correlated with either treatment factors (such as husbandry, feeding, timing of oestrus detection and artificial insemination, sperm treatment) or cow factors such as breed, age, body condition value, postpartum problem, disease incidence, milk production and genetics (Hudson et al. 2012).

#### Effect of body condition scores

Poor nutritional status directly affects the fertility of the cattle, especially during grazing in subtropical/tropical regions (Bó et al. 2003). Providing the animals with a sufficient amount of balanced nutrition helps to achieve a good body condition score (BCS), which ensures satisfactory reproductive performance. Fertilization rates are directly correlated with BCS, because non-genetic factors such as season, year, feed and management are some of the factors that influence this trait. In Boran cows, lower fertility is usually observed during the dry season when BCS values are generally lower. Animals with optimal body condition during artificial insemination had better fertility than animals with poor or higher BCS (Shamsuddin et al. 2001; Emebet and Zeleke, 2007).

#### Effect of age

Infertility is a major problem affecting the reproduction of both indigenous and crossbred cows and heifers in Ethiopia (Duguma et al. 2012). Puberty in Zebu x Friesian crossbred cattle has generally been observed at 24 months in Ethiopia and heifers have been reported to have a later age at first calving. Most cows raised by smallholders do not calve until 12-13 months after first calving (Shiferaw et al. 2003). In heifers, the nutritional requirements of continuous growth and lactation make additional demands on the animal that can affect conception rater (CR) (Goshu, 2005). The reduction in the CR



with age of the cow could partly attribute to the exposure of the cows to different reproductive diseases also other similar stress factors (Gebregziabher, 2005).

#### Effect of parity

Studies by (Buckley et al. 2003) indicated that in multiparous cows have low conception rate in comparison to the primiparous cows. However, parity has direct association on the occurrence of reproductive problems (Molalegne and Shiv, 2011). In addition to this, (Adane et al. 2014) also indicated that parity had influence on the prevalence of reproductive health, as animals with more than three parties are more susceptible to reproductive problems than the heifers. Due to delayed resumption of ovarian activity after calving (as a result of the longer resting period needed to recover from parturition stress and to cop-up with the increased demand for growth and lactation) among the heifers the conception rate was higher than those of the cows calving for the second and third time. However, the values are higher than from cows with the higher parities (Gebregziabher, 2005). Studies by (Khan et al. 2008; Bhattacharyya et al. 2009) indicate that conception rate peaked during the second lactation and declines thereafter.

#### Time of heat detection and appropriate time of insemination

Million et al. 2011 using estradiol benzoate (EB) or gonadotropin-releasing hormone (GnRH)-based PGF2 $\alpha$  protocol showed that the mean estrus interval varied between genotypes, while in Boran cows it was 70.67 hours, it was found to be 54.58 hours in Boran X Holstein Friesian cross. The result by using EB with controlled internal drug (CID) and PGF2 $\alpha$  was more effective than GnRH in increasing the number of cows in estrus and establishing close synchrony. Results of a study by (Adebebay et al. 2013) using prostaglandin (PGF2 $\alpha$ ) alone indicated that the average numbers of hours to estrus interval in cows and heifers post injection was 51 and 50 hours, respectively in Bahir Dar, (Azage et al. 2012) 13 to 154 hours in Dale milk shed, for Hamid, 2012 57.9 hours in Siltie zone. Use of prostaglandin or its analog (PGF2 $\alpha$ ) in a synchronization protocol shortens the estrous cycle when used alone, with estrus observed within 2-7 days of post hormone injection (Gupta et al. 2008).

#### Factors related to the cow

As stated by Hamid (2012), the breed of the cow also affects pregnancy success by approximately 42.9%. Postpartum problems, including endometritis, have been reported to have a negative effect on fertility, meaning that first conception rates are poor and conception rates are higher in primiparous cows than in older cows using two timed breeding methods (Tenhagena et al. 2001; Rahim and Asghar, 2007). The reproductive health of the cow, especially the uterine environment, is extremely important to the success of AI. High reproductive performance depends on achieving normal uterine involution, early recovery of ovulation, high efficiency of estrus detection and high fertilization by treatment (James, 2006). Rahim and Asghar, 2007 reported that postpartum health and reproductive disorders significantly affect conception. Thus, the key to maximizing pregnancy rates should lie in preventing disorders, not treating them after they occur. Some evidence suggests that cows suffering from metabolic disorders such as milk fever may have a higher incidence of reproductive disorders and lower conception rates (Rahim and Asghar, 2007).

#### Factors related to management

Management and environmental factors account for 96% of the variation in conception rates. The remaining 4% of variation in conception rate is due to genetic factors, of which 3% in cows and 1% in service bulls (Saha et al. 2014).

#### Semen quality

Most bulls in National Artificial Insemination Center (today's Livestock Development Unit) had very good libido (77.8%) and good mobility and about 22.2% had hoof problems affecting their mobility (Desalegn et al. 2009). The highest scrotal circumference was observed in Jersey cattle, followed by Holstein-Friesian and Holstein-Friesian crosses at 51.7%, and there was no significant variation in sperm motility between regions. Sperm motility in the NAIC was 53.2%, and in areas where the male has been lost to reproduction mainly due to AI, it is necessary to assess the potential fertility of the sperm before clinical and laboratory examination and in vitro evaluation (Abate, 2006).

#### Shortage of AITs and low output from the available technicians

According to (Desalegn et al. 2009) for the technical knowledge of AI technicians in Ethiopia, 10%, 26.7%, 53.3%, and 10% are excellent, very good, good, and poor, respectively. A highly trained seed operator (Arthur, 2001) is one of the most important investments in the successful implementation of artificial intelligence in breeding. The effectiveness of artificial insemination of a cow depends, among other things, on the ability of the artificial inseminator to deliver sperm in the appropriate estrous stage to the right place in the genital tract. However, there is a tendency to adopt routine fertilization techniques and ignore the factors related to artificial insemination that can dramatically affect fertility. Although professional inseminators palpate the reproductive tracts of several cows every day, most have not received a uterine and ovarian examination.

#### Oestrus synchronization and mass Artificial Insemination

The history of dairy cattle estrous cycle synchronization and artificial insemination shows how basic science discoveries can be applied to the development of reproduction and management techniques (Beal, 2002). Synchronization of estrus involves the manipulation or regulation of the estrus cycle of females, so that they can breed at approximately the same time (Rick and Gene, 2013). Synchronization of the estrus cycle can shorten the calving season, increase calf uniformity and improve AI capabilities. In addition, managing synchronization helps to optimize the use of time, labor and financial resources (Alemayehu, 2010). Hormonal estrus synchronization was introduced in Ethiopia as a solution for an effective AI service system and as an additional opportunity to improve the ability of small farmers to obtain genetically improved dairy cows in a short time in areas where dairy development is possible.

#### Oestrus response of hormone treated dairy cattle

Most cattle (local and crossbred cows/cows) respond to PGF<sub>2</sub> $\alpha$  and oestrus. Various literatures reported the conception rate as (Destalem, 2015) 37.95%, (Azage et al. 2013) 60% and (Bainesagn, 2015) cow estrus response to PGF<sub>2</sub> $\alpha$  73.40% in cows and 66.67% in heifers in the West Shaw zone. (Azage et al. 2012) at the Awassa-Dale dairy and (Girmay et al. 2015) reported 97.7% and 92.17% oestrus response rates with a single injection prostaglandin protocol at the farmer level in and around the Awulaelo area of Wukro shale. Adebabay et al. 2013 reported that the average response rate of cows to injection of prostaglandin (PGF<sub>2</sub> $\alpha$ ) or its analogue was 89.3% in Bahir Dar Dairy, while (Tewodros et al. 2015) reported that when PGF<sub>2</sub> $\alpha$  was administered to cows with functionally mature corpus luteums, 98.9% showed signs of oestrus.

**Table 1:** - Oestrus response and conception rate of hormonal treated cow/heifer

Research site/area	Number of cows/heifers treated	Oestrus response (%)	Conception rate (%)	Source
West Gojam zone of Amhara Region	126	88.9	60.3	(Samuel, 2015)
Sidama zone of SNNP	126	89.7	58.4	(Debir, 2015)
Awassa-Dale Milkshed	175	97.7	57.7	(Azage et al. 2012)
Adigrat-Mekelle Milkshed	193	100	61.7	(Azage et al. 2012)
North-West of Ethiopia (Fogera district)	93	98.92	26.88	(Tewodros et al. 2015)
West Shoa Zone	130	72.3	57.44	(Bainesagn, 2015)

### Synchronization principles

Synchronization of estrus in cows is feasible by either curtailing or extending the length of estrus cycle, which can be maintained based on two principles; one is using of in-situ luteolytic agent (prostaglandin) that induces luteolysis of corpus luteum (CL) and exogenous administration of such agents mimics premature luteolysis and hence results in to shortening of left over diestrus phase of estrus cycle; and the second principles is lengthening of diestrus phase through maintenance of Corpus luteum in terms of progesterone production which determines the length of diestrus phase. Hence, with the administration of progesterone hormone, the diestrus phase can be extended (Cliff, 2010).

### Factors affecting estrus synchronization

Transferring the current reproductive management tools and technology to producers, veterinarians and industry personnel must be a priority to ensure adoption by the producer and provide the technical support necessary to achieve optimal results. Since current management, race, economic, location and marketing options are producer-specific, it is important to ensure that the transfer of this technology is not presented in general recommendations (Lamma, 2010).

### CONCLUSION

Artificial insemination (AI) is the most commonly used technique of biotechnology in different animal species especially in dairy in developing countries, including Ethiopia.

### REFERENCES

- Abate H. 2006. Evaluation of artificial insemination service efficiency and reproductive performance in North Gondar Zone, Ethiopia. MSc Thesis. Haramaya University, Haramaya.
- Arthur, G. H., 2001: Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics. Eighth edition, Pp. 430- 767.
- Beal, W.E., 2002. Estrous synchronization of cyclic and anestrus cows with Syncro-Mate-B®. Factors affecting calf crop: Biotechnology of reproduction, pp.35-42.
- Bhattacharyya H.K., Fazili M.R., Khan I. and Bhat FA., 2009. Fertility status of artificial inseminated crossbred cows of Kashmir Valley. Asian J. Anim. Sci. ISSN 1819-1878.
- Bó, G.A., Baruselli, P.S. and Martínez, M.F., 2003. Pattern and manipulation of follicular development in Bos indicus cattle. Animal reproduction science, 78(3-4), pp.307-326.
- Buckley, F., O'sullivan, K., Mee, J.F., Evans, R.D. and Dillon, P., 2003. Relationships among milk yield, body condition, cow weight, and reproduction in spring-calved Holstein-Friesians. Journal of dairy science, 86(7), pp.2308-2319.
- Cliff, L.G., 2010. Estrus synchronization protocols for cows. North Florida research and education center, Marianna, Florida. Proceedings, Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle January, 28(29), p.2010.
- CSA, 2021. Ethiopian Agricultural Sample Survey. Vol II. Report on Livestock and Livestock Characteristics. Statistical Bulletin 589. Addis Ababa, Ethiopia
- Debir, L., 2016. Assessment of breeding practice and evaluation of estrus synchronization of dairy cattle in Sidama zone, Southern Ethiopia (Doctoral dissertation, M. sc. Thesis, Hawassa University, Hawassa, Ethiopia).
- Duguma, B., Tegegne, A. and Hegde, B., 2012. Smallholder livestock production system in Dandi district, Oromia Regional State, central Ethiopia. Read and write, 20, pp.25-26.
- Emebet M., and Zeleke M. 2007. Reproductive Performance of Crossbred Dairy Cows in Eastern lowlands of Ethiopia. Livestock Research for Rural Development. 19(161).
- FAO, 2000. World Watch List for Domestic Animal Diversity, 3rd edition. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Gebremedhin, D.G., 2008. Assessment of problems/constraints associated with artificial insemination service in Ethiopia (Doctoral dissertation, Addis Ababa University).

- Holm, D.E., Thompson, P.N. and Irons, P.C. , 2008. The economic effects of an estrus synchronization protocol using prostaglandin in beef heifers. *Theriogenology*, 70:1507-1515.
- Khan, M.R.K., 2008. Post Artificial Insemination conception rate in cattle at Bangladesh Agricultural University Veterinary Clinic. Master of Science Thesis, Department of Surgery and Obstetrics, Bangladesh Agricultural University, Mymensingh.
- Lemma, A., 2010. Factors Affecting the Effective Delivery of Artificial Insemination and Veterinary Services in Ethiopia: Addis Ababa University Presentation to the Ethiopian Fodder Roundtable on Effective Delivery of Input Services to Livestock Development. A presentation Report, June 22/2010, Addis Ababa.
- Malik, A., Haron, A.W., Yusoff, R., Kasim, A. and Yusoff, S.M., 2012. Pregnancy rate following artificial insemination or natural service in postpartum estrus synchronized beef cattle. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 36(4), 451-455.
- Mekonnen A., Haile A., Dessie T. and Mekasha Y. 2012. On farm characterization of Horro cattlebreed production systems in western Oromia, Ethiopia. *Livestock Research for Development* 24 (100). Retrieve June 25, 2015 from <http://www.lrrd.org/lrrd24/6/meko24100.htm>.
- Million, T., Theingthan, J., Pinyopummin, A., Prasanpanich, S. and Azage, T., 2011. Oestrus Performance of Boran and Boranx Holstein Fresian Crossbred Cattle Synchronized with a protocol based on Estradiol benzoate or Gonadotrophin-Releasing Hormone. *Kasetsart Journal (Natural Science)*, 45, pp.221-232.
- Saha, R., Ashraf, A., Rahman, Z. and ADV, J., 2014. Comparative study on conception rate of cow in using frozen and liquid semen. *Journal of Animal Science Advances*; 4(3),749-772.
- Samsson A. 2001. Assessment of the Reproductive performance of Artificially inseminated cattle in and around Addis Ababa,
- Shamsuddin, M., Bhuiyan, M.M., Sikder, T.K., Sugulle, A.H., Chanda, P.K., Alam, M.G. and Galloway, D., 2001. Constraints limiting the efficiency of artificial insemination of cattle in Bangladesh.
- Shiferaw G. 2006. In-situ phenotypic characterization of Kereyu cattle type in Fentalle district of Oromia , Ethiopia. An MSc Thesis Presented to the School of Graduate Studies of Haramaya University, Haramaya, Ethiopia.
- Shiferaw, Y., Tenhagen, B.A., Bekana, M. and Kassa, T., 2003. Reproductive performance of crossbred dairy cows in different production systems in the central highlands of Ethiopia. *Tropical Animal Health and Production*, 35(6), pp.551-561.
- Tegegne A., Gebremedhin B., Hoekstra D., 2010. Livestock input supply and service provision in Ethiopia: Challenges and opportunities for market-oriented development. *International Livestock Research Institute, Nairobi, Kenya*, 7-12

**VETERİNER FAKÜLTESİ ÖĞRENCİLERİNİN BESLENME BİLGİ DÜZEYLERİNİN  
BELİRLENMESİ: SAMSUN ÖRNEĞİ**

**DETERMINATION OF NUTRITION KNOWLEDGE LEVEL OF STUDENTS OF FACULTY  
OF VETERINARY MEDICINE: EXAMPLE OF SAMSUN**

**Uzm. Dyt. Pınar DEMİR**

*Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Beslenme ve Diyet Birimi, Giresun, Türkiye*

ORCID NO: <https://orcid.org/0000-0002-9303-1230>

**Prof. Dr. Dilek ÇELİKLER**

*Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Matematik ve Fen Bilimleri Eğitimi Bölümü, Samsun,  
Türkiye.*

ORCID NO: <https://orcid.org/0000-0002-9945-7195>

**ÖZET**

Bu araştırmada, Veteriner Fakültesi'nde öğrenim gören öğrencilerin temel beslenme bilgisi ve besin tercihlerini kapsayan beslenme bilgi düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Araştırma tarama modeli kullanılarak bir devlet üniversitesinde öğrenim görmekte olan 122'si kadın, 126'sı erkek toplam 248 öğrenci ile yürütülmüştür. Araştırmada veriler, Batmaz (2018) tarafından geliştirilen Beslenme Bilgi Düzeyi (YETBİD) Ölçeği ile toplanmıştır. Elde veriler SPSS istatistik programı ile analiz edilmiştir. Araştırma sonucunda öğrencilerin sınıfları ve yaşları ile temel beslenme bilgisi ve besin tercihleri arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ( $p > 0.05$ ). Cinsiyet ile temel beslenme bilgisi arasında anlamlı bir farklılık belirlenmemiş olup ( $p > 0.05$ ), besin tercihleri arasında kadın öğrenciler lehine anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ( $p < 0.05$ ). Araştırmada Veteriner Fakültesi öğrencilerinin %77.4'ünün temel beslenme bilgisi, %54,1'inin ise besin tercihlerinin iyi seviyede olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Karbonhidrat, protein, lipid, vitamin ve minerallerin yapısını ve metabolizmasını kapsayan biyokimya dersi başta olmak üzere, besin ve besin öğelerini içeren diğer derslerin öğrencilerin beslenme bilgi düzeylerinin iyi seviyede olmasında etkili olduğu düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Veteriner Fakültesi öğrencileri, Besin tercihi, Beslenme bilgisi, Biyokimya.

*Bu araştırma Pınar DEMİR'in Yüksek Lisans Tezinden Üretilmiştir.*

**ABSTRACT**

In this research, it was aimed to determine of the nutritional knowledge levels of the students, who study at the Faculty of Veterinary Medicine, including basic nutritional knowledge and food preferences. The research was coordinated through research screening model with 248 students, 122 female and 126 male, who study at a state university. The data in research were collected with scale of the Nutrition Knowledge Level Scale for Adults (NKLSA), which consists of Basic Nutrition and Food Preference sections developed by Hilal Batmaz (2018). The data obtained were analyzed with SPSS statistical program. As a result of the research, significant difference wasn't found between the classes and ages of the students with theirs basic nutritional knowledge and food preferences ( $p > 0.05$ ). It wasn't specified a significant difference between gender and basic nutritional knowledge ( $p > 0.05$ ) and it was determined a significant difference in female students' favour between food preferences ( $p < 0.05$ ). In the study, it was concluded that 77.4% of the students of the Faculty of Veterinary Medicine had a good level of basic nutritional knowledge and so 54.1% of students had good food preferences. It is thought that the biochemistry course in particular including the structure and metabolism of carbohydrates, proteins,

lipids, vitamins and minerals, and other courses that contain nutrients and nutrients elements are effective in making good degree the nutritional knowledge level of the students.

**Keywords:** Students of Faculty of Veterinary Medicine, Food preference; Nutrition knowledge, Biochemistry.

*This study is summarized from the master's thesis of Pınar DEMİR*

## GİRİŞ

Bir ülkenin sosyoekonomik açıdan geldiği uygarlık seviyesi teknolojik gelişmelerin yanısıra insan faktörüne de bağlıdır. Hem fiziksel hem de zihinsel yönden sağlıklı bireyler toplumsal kalkınmanın temel unsuru olarak kabul edilmektedir. Toplumdaki bireylerin ilk olarak aile ortamında olumlu beslenme alışkanlıkları kazanmaları, yeterli ve dengeli beslenmeye başlamaları fiziksel ve mental açıdan sağlıklı olmalarıyla yakından ilişkilidir (Sabbağ, 2003). Yeterli ve dengeli beslenme ise vücut hacminin artması, kendini yenileyebilmesi ve gereksinimlerini karşılayabilmesi için ihtiyacı olan besin öğelerinin yeterli ölçüde alınması ve bu öğelerin vücutta en doğru şekilde kullanılmasıdır. Besin öğeleri vücudun gereksiniminden daha az miktarda alınırsa yetersiz beslenme görülür. Yeterli miktarda alınan besin öğelerinin yanlış seçimler veya pişirme yöntemleri nedeniyle dengesiz beslenme görülür (Çakırcalı, 1998; McArdle ve ark., 2007; Baysal, 2011).

Bireylerin gereksinimlerini önem derecesine göre sıralayan Maslow, ilk sıraya beslenme ve uyku gibi fizyolojik ihtiyaçları koymuştur. Yeme, içme ihtiyacı insanların birinci basamak ihtiyaçları olan fizyolojik ihtiyaçlar arasındadır (Dölekoğlu ve Yurdakul, 2004). Çocukluk ve gençlik döneminde dengeli ve düzenli beslenme alışkanlıkları edinmek, yetişkinlik döneminde de dengeli ve düzenli beslenmeye katkı sağlar. Üniversite dönemi, gençlik döneminde edinilen beslenme alışkanlıklarının oluşmasında kritik bir dönemdir. Bu dönemde öğrencilerin sağlıklı ve başarılı bir eğitim hayatı için yaşlarına, fiziksel ihtiyaçlarına göre dengeli ve düzenli beslenmeleri gereklidir (Court, 1988; Açık ve ark., 2003; Baysal, 2004; Vançelik ve ark., 2007).

Gençlerin yeterli ve dengeli beslenmeleri yalnızca kendi sağlıkları için değil, aynı zamanda gelecek nesillere doğru beslenme davranışları kazandırmaları açısından da önemlidir. Ancak ülkemizde beslenme, üniversite dönemindeki gençler için önemli bir sorundur (Yumuturuğ ve Sungur, 1980; Baysal, 1990). Beslenme sorunlarının tek nedeni yeterli besin ögesine ulaşamamak değildir. Toplumun bazı bölümlerinde yeterli ve dengeli beslenme bilgisinin yetersiz olması da beslenme sorunlarının bir nedenidir (Baysal, 1990). Oluşabilecek sağlık problemlerini ve diğer bozuklukları önlemek amacıyla öğrencilerin beslenme alışkanlıklarının ve olası yanlışların tespit edilmesi oldukça önemlidir (Mazıcıoğlu ve Öztürk, 2003). Bu bağlamda yapılan bu araştırma ile Veteriner Fakültesi'nde öğrenim gören öğrencilerin temel beslenme ve besin tercihlerini kapsayan beslenme bilgi düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### Araştırmanın Modeli

Araştırmada nicel araştırma yöntemlerinden genel tarama modeli kullanılmıştır. Tarama modelinde araştırmacı tarafından belirlenen seçeneklerin cevaplanması ile veri toplanır. Genellikle geniş bir kitlenin katıldığı bu model ile çalışma grubunun görüş ve özelliklerinden çok dağılımıyla ilgilenilmektedir (Fraenkel ve Wallen, 2006).

### Araştırmanın Çalışma Grubu

Araştırmanın çalışma grubunu bir devlet üniversitesinin Veteriner Fakültesi 1., 2., 3., 4. ve 5. sınıfta öğrenim görmekte olan toplam 248 öğrenci oluşturmaktadır. Bu öğrencilerin cinsiyet, sınıf ve yaş gruplarına göre frekans (f) ve yüzde (%) dağılımları Tablo 1'de verilmiştir.

**Tablo 1.** Öğrencilerin cinsiyet, sınıf ve yaş gruplarının frekans ve yüzde dağılımları.

		f
<b>Cinsiyet</b>	Kadın	122
	Erkek	126
<b>Sınıf</b>	1. sınıf	60
	2. sınıf	60
	3. sınıf	60
	4. sınıf	12
	5. sınıf	56
<b>Yaş Grupları</b>	18-19	64
	20-21	84
	22-23	62
	24-25	25
	25 üzeri	13

Çalışma grubunda yer alan öğrencilerin diğer demografik özellikleri ise şöyledir;

- %3.6'sı evli, %96.4'ü bekâr,
- %3.2'si çalışıyor, %96.8'i çalışmıyor,
- %8.9'unun sağlık sorunu var (öğrencilerin dikkat eksikliği, hiperaktivite, işitme kaybı, panik atak, yüksek tansiyon, kronik bronşit, böbrek taşı, gastrit, alerji, obezite, böbrekte boyut farkı, astım, guatr, romatizma, triküspidal yetersizlik, menisküs yırtığı, hipoglisemi, geçirilmiş AKA (antikardiyolipin antikor), migren, kronik diyare, hipotiroidi, lordoz, alkalenreflü, diyabet ve PCOS (Polikistik Over Sendromu) sorunları olduğu belirlenmiştir), %91.1'inin sağlık sorunu yok,
- %56.9'u sigara kullanmıyor, %34.7'si kullanıyor, %8.4'ü ise bazen kullanıyor,
- %56.5'i alkol kullanmıyor, %25.0'ı kullanıyor, %18.5'i ise bazen kullanıyor,
- %52.4'ü 3-4 kişi ile %25.8'i 5-6 kişi ile %17.8'i 1-2 kişi ile %4'ü 6'dan fazla kişi ile aynı evde yaşıyor,
- %29.8'i toplam gelirinin %20'sini, %23.8'i %30'unu, %21.0'i %40'ını, %15.7'si %50 ve üzerini, %2.8'i ise %5'ini beslenmeye harcıyor,
- %45.2'si günde 5-8 bardak, %25.4'ü 9-12 bardak, %24.2'si 1-4 bardak, %5.2'si 12 bardak üzerinde su tüketiyor,
- %85.1'i vitamin-mineral desteği kullanmıyor, %14.9'u kullanıyor,
- %58.5'i günde 3 öğün, %24.6'sı 2 öğün, %12.5'i 4 öğün, %3.2'si 5 öğün, %0.8'i 1 öğün, %0.4'ü 6 öğün besleniyor,
- %41.9'u en çok akşam, %40.4'ü sabah, %12.9'u öğle, %2'si ikindi ve gece, %0.8'i kuşluk öğününe önem veriyor,
- %49.6'sı öğün atlıyor, %29'u atlamıyor, %21.4'ü bazen atlıyor,
- %51.7'si en çok kahvaltı, %31.8'i öğle, %7.4'ü öğle, %5.7'si akşam, %2.8'i ikindi, %0.6'sı gece öğününü atlıyor,
- %67.4'ü beslenme eğitimi almadığını, %18.1'i aldığını, %14.5'i kısmen aldığını belirtiyor,
- %14'ü beslenme eğitimini TV/radyo kanalından, %12'si derslerden, %10.4'ü gazete/dergiden, %7.2'si sağlık görevlisi ve diyetisyenden, %6.4'ü anne/babadan, %3.2'si diğer kanallardan aldıklarını belirtiyor,
- %56.5'i beslenme eğitimi almak istiyor, %43.5'i beslenme eğitimi almak istemiyor,

- %47.6'sı beslenme eğitimini zayıflama, %46.3'ü sağlıklı beslenme, %24.1'i kalp ve şeker hastalıklarında beslenme, %11.9'u çocuk beslenmesi, %9.8'i gebelikte beslenme, %7.1'i diğer konularda, %4.9'u emziliklikte beslenme, %3.5'i yaşlı beslenmesi konularında almak istiyor,
- %83.9'u diyet yapmıyor, %16.1'i diyet yapıyor,
- %39.9'u beslenme ve sağlık arasındaki ilişkinin derecesini 10, %20.2'si 9, %18.2'si 8, %10.5'i 7, %4.8'i 5, %3.6'sı 6, %1.6'sı 4, %0.8'i 3, %0.4'ü ise 2 olarak belirtiyor,
- %19.8'si günlük hayattaki besin tercihlerinin doğruluk derecesini 5, %18.5'i 6 ve 7, %11.7'si 4, %8.9'u 8, %8.1'i 3, %3.6'sı 0 ve 9, %3.3'ü 10, %3.2'si 2, %0.8'i ise 1 olarak belirtiyor.

### Araştırmanın Veri Toplama Araçları

Araştırmada veri toplama aracı olarak Batmaz (2018) tarafından geliştirilen ve 5 bölümden oluşan “Yetişkinler İçin Beslenme Bilgi Düzeyi (YETBİD) Ölçeği” kullanılmıştır. Ölçeğin birinci bölümünde öğrencilerin sosyo-demografik özelliklerini saptamaya yönelik 23 soru bulunmaktadır. İkinci bölümünde öğrencilerin temel beslenme bilgi düzeylerini ölçmeye yönelik 20 maddeye yer verilmiştir. Bu maddelere öğrenciler kesinlikle katılıyorum, katılıyorum, ne katılıyorum ne katılmıyorum, katılmıyorum, kesinlikle katılmıyorum seçeneklerinden birini tercih etmişlerdir. Temel beslenme ölçeğinden en yüksek 80 puan alınabilir. Ölçekten 45 puanın altında alanlar kötü, 45 ile 55 puan arasında alanlar orta, 56 ile 65 puan arasında alanlar iyi, 65 puan üzerinde alanlar ise çok iyi olarak değerlendirilmiştir.

Ölçeğin üçüncü bölümünde öğrencilerin beslenme ile sağlık arasındaki ilişkiyi 0'la 10 arası derecelendirdikleri “Vizuel Analog Skala (VAS)” uygulanmıştır.

Ölçeğin dördüncü bölümde öğrencilerin beslenme tercihlerini belirleyen ve 12 maddeden oluşan “Besin Tercihi” ölçeği kullanılmıştır. Bu bölümde de öğrenciler “Temel Beslenme” bölümündeki seçeneklerden birini seçmiş ve aynı yöntemle puanlanmışlardır. Besin tercihi ölçeğinden alınabilecek en yüksek puan ise 48'dir. Besin tercihi ölçeğinden 30 puanın altında alanlar kötü, 30 ile 36 puan arasında alanlar orta, 37 ile 42 puan arasında alanlar iyi, 42 puanın üzerinde alanlar ise çok iyi olarak değerlendirilmiştir.

Ölçeğin beşinci bölümünde ise öğrencilere kendilerini günlük hayattaki besin tercihleri konusunda 0'la 10 arası derecelendirdikleri “Vizuel Analog Skala” uygulanmıştır.

### Verilerin İstatistiksel Analizi

Araştırmada YETBİD Ölçeği kullanılarak elde edilen verilerin analizi, SPSS istatistik paket programı ile gerçekleştirilmiştir. Araştırma verileri değerlendirilirken aritmetik ortalama, mod, medyan, çarpıklık ve basıklık katsayısı değerleri belirlenerek verilerin dağılımının normalliği ortaya konmuştur. Temel beslenme ve besin tercihi ölçeklerinin normallik testi sonuçları Tablo 2'de verilmiştir.

**Tablo 2.** Temel beslenme ve besin tercihi ölçeklerinin normallik testi sonuçları

	Aritmetik Ortalama	Mod	Medyan	Çarpıklık Katsayısı	Basıklık Katsayısı
<b>Temel Beslenme</b>	76.57	79	77.00	- 0.159	- 0.258
<b>Besin Tercihi</b>	48.37	47	48.00	0.463	0.233

Çarpıklık ve basıklık kat sayıları +1 ile -1 arasında değerler aldığı zaman normal dağılım gösterdiği söylenebilir. Ayrıca ortalama, mod ve medyan değerlerinin de birbirine yakın olması sebebiyle test puanlarının normal dağılım gösterdiği kanısına varılmıştır. Bu sebeple istatistiksel testlerin seçiminde parametrik testler (bağımsız t-testi, One-Way Anova) seçilmiştir.

Temel beslenme bilgi düzeylerini ölçmeye yönelik ölçeğe Veteriner Fakültesi öğrencilerinin verdikleri cevapların, sınıflara göre istatistiksel olarak bir fark olup olmadığını belirlemek için parametrik bir test olan ilişkisiz örneklem için tek faktörlü varyans analizine (One-Way Anova) ait bulgular Tablo 3'te verilmiştir.



**Tablo 3.** Öğrencilerin sınıflarına göre temel beslenme ölçeğinin One-Way Anova sonuçları

Kaynaklar	Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ortalaması	F	p
Gruplar arası	121.070	4	30.267		
Grup içi	9673.624	243	39.809	.760	<b>.552</b>
Toplam	9794.694	247			

Tablo incelendiğinde, Veteriner Fakültesi öğrencilerinin sınıflarına göre temel beslenme bilgi seviyeleri arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ( $p > 0.05$ ).

Veteriner Fakültesi öğrencilerinin cinsiyetlerine göre temel beslenme bilgisi ile ilgili t testi sonuçları Tablo 4'te verilmiştir.

**Tablo 4.** Öğrencilerin cinsiyete göre temel beslenme bilgisi ile ilgili t testi sonuçları

Cinsiyet	N	SS	t	df	p	
Kadın	122	77.21	5.896	1.581	246	<b>.115</b>
Erkek	126	75.79	6.627			

Tablo incelendiğinde, Veteriner Fakültesi öğrencilerinin temel beslenme bilgi seviyelerinin cinsiyete göre anlamlı bir farklılık göstermediği belirlenmiştir ( $p > 0.05$ ).

Temel beslenme bilgi düzeylerini ölçmeye yönelik ölçeğe Veteriner Fakültesi öğrencilerinin verdikleri cevapların, yaşlarına göre istatistiksel olarak bir fark olup olmadığını belirlemek için parametrik bir test olan ilişkisiz örneklem için tek faktörlü varyans analizine (One-Way Anova) ait bulgular Tablo 5'te verilmiştir.

**Tablo 5.** Öğrencilerin yaşlarına göre temel beslenme ölçeğinin One-Way Anova sonuçları

Kaynaklar	Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ortalaması	F	p
Gruplar arası	121.070	4	30.267		
Grup içi	9673.624	243	39.809	.760	<b>.552</b>
Toplam	9794.694	247			

Tablo incelendiğinde, Veteriner Fakültesi öğrencilerinin yaşlarına göre temel beslenme bilgi seviyeleri arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ( $p > 0.05$ ).

Besin tercihlerini ölçmeye yönelik ölçeğe Veteriner Fakültesi öğrencilerinin verdikleri cevapların, sınıflara göre istatistiksel olarak bir fark olup olmadığını belirlemek için parametrik bir test olan ilişkisiz örneklem için tek faktörlü varyans analizine (One-Way Anova) ait bulgular Tablo 6'da verilmiştir.

**Tablo 6.** Öğrencilerin sınıflarına göre besin tercihi ölçeğinin One-Way Anova sonuçları

Kaynaklar	Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ortalaması	F	p
Gruplar arası	99.129	4	24.782		
Grup içi	6633.674	239	27.756	.893	<b>.469</b>
Toplam	6732.803	243			

Tablo incelendiğinde, Veteriner Fakültesi öğrencilerinin sınıflarına göre besin tercihleri arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ( $p > 0.05$ ).

Veteriner Fakültesi öğrencilerinin besin tercihlerinin cinsiyete göre anlamlı bir farklılığı bulunup bulunmadığını belirlemek amacıyla t testi yapılmış ve sonuçlar Tablo 7'de verilmiştir.

**Tablo 7.** Öğrencilerin cinsiyete göre besin tercihi ile ilgili t testi sonuçları

Cinsiyet	N	SS	t	df	p	
Kadın	119	49.11	4.780	2.160	242	<b>0.032</b>
Erkek	125	47.66	5.615			

Tablo incelendiğinde, Veteriner Fakültesi kadın ve erkek öğrencilerin besin tercihleri arasında anlamlı bir farklılık belirlenmiştir ( $p < 0.05$ ). Buna göre kadın öğrencilerin besin tercihlerinin (= 49.11) erkek öğrencilerin besin tercihlerinden (= 47.66) daha doğru olduğu görülmüştür.

Besin tercihlerini ölçmeye yönelik ölçüğe Veteriner Fakültesi öğrencilerinin verdikleri cevapların, yaşlarına göre istatistiksel olarak bir fark olup olmadığını belirlemek için parametrik bir test olan ilişkisiz örneklem için tek faktörlü varyans analizine (One-Way Anova) ait bulgular Tablo 8'de verilmiştir.

**Tablo 8.** Öğrencilerin yaşlarına göre besin tercihi ölçüğünün One-Way Anova sonuçları

Kaynaklar	Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ortalaması	F	p
Gruplar arası	101.924	4	25.481		
Grup içi	6630.879	239	27.744	.918	<b>.454</b>
Toplam	6732.803	243			

Tablo incelendiğinde, Veteriner Fakültesi öğrencilerinin yaşlarına göre besin tercihleri arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ( $p > 0.05$ ).

## BULGULAR

Veteriner Fakültesi öğrencilerinin temel beslenme bilgisi ve besin tercihi ölçeklerinden aldıkları puanların frekans (f) ve yüzde (%) dağılımları Tablo 9'da verilmiştir.

**Tablo 9.** Öğrencilerin temel beslenme bilgisi ve besin tercihi ölçeklerinden aldıkları puanların frekans ve yüzde dağılımları

	Puan Aralığı	f	%
<b>Temel Beslenme Bilgisi</b>	<45 (kötü)	0	0
	45-55 (orta)	28	11.3
	56-65 (iyi)	192	77.4
	65< (çok iyi)	28	11.3
<b>Besin Tercihi</b>	<30 (kötü)	4	1.6
	30-36 (orta)	56	23.0
	37-42 (iyi)	132	54.1
	42< (çok iyi)	52	21.3

## Temel Beslenme Ölçeğinden Elde Edilen Bulgular

Araştırmaya katılan öğrencilerin %77.4'ünün 56-65 puan alarak temel beslenme bilgi düzeylerinin iyi seviyede olduğu belirlenmiştir.

Öğrenciler havucun iyi bir A vitamini kaynağı, karbonhidratların temel enerji kaynağı, dondurulmuş ürünlerin besin değerinin taze besinlerden daha düşük, kuru fasulye piyazının lif içeriğinin yüksek, salam ve sosis gibi işlenmiş et ürünlerinin içindeki yağların sağlığımız için zararlı, süt ve süt ürünlerindeki kalsiyum mineralinin kemik ve diş sağlığı için önemli, kemik erimesinden korunmada görevli olan D vitamininin en iyi kaynağının güneş, portakalda bulunan C vitamininin bağışıklığın güçlenmesini sağlayarak soğuk algınlığı ve gribal enfeksiyonlara karşı koruyucu ve kırmızı ve mor renkli sebze ve meyvelerin kanserden koruyucu olduğunu ifade eden maddelere 1., 2., 3., 4. ve 5. sınıf öğrencileri yüksek oranda katılarak olumlu sonuç bildirmişlerdir.

Doğal taze sıkılmış meyve sularının şeker içerdiğini, vitamin ve minerallerin enerji verdiğini, meyvelerin yüksek protein içerdiğini, zeytinyağı tüketmenin kolesterolü yükselttiğini, tuzun fazla tüketilmesinin tansiyonu etkilemediğini ifade eden maddelere 1., 2., 3., 4. ve 5. sınıf öğrencileri yüksek oranda katılmayarak olumlu sonuç bildirmişlerdir.

Yumurta ile kırmızı etin içerdikleri protein miktarı açısından benzer olduğunu ifade eden maddeye 1., 2., 3. ve 5. sınıflar yüksek oranda katılarak olumlu sonuç bildirirken, 4. sınıflar ne katılıp ne katılmadığını belirtmişlerdir.

E vitamininin görme duyusu için oldukça iyi olduğunu ifade eden maddeye 2., 3., 4. ve 5. sınıflar yüksek oranda katılarak olumsuz sonuç bildirirken, 1. sınıflar ne katılıp ne katılmadığını belirtmişlerdir.

İçeriğinde bulunan vitaminler nedeniyle tam tahıllı ekme tüketmenin sinir sistemi için faydalı, kırmızı etin içeriğinde bulunan B<sub>12</sub> vitamininin unutkanlığı önlemede etkili olduğunu ifade eden maddeye 1., 2., 4. ve 5. sınıf öğrencileri yüksek oranda katılarak olumlu sonuç bildirirken, 3. sınıf öğrencilerinden katılan ve ne katılıp ne katılmadığını ifade edenlerin sayısı birbirine eşittir.

Balığın doymuş yağ içeriğinin kırmızı etten daha yüksek olduğunu ifade eden maddeye 4. sınıf öğrencileri yüksek oranda katılmayarak olumlu, 3. ve 5. sınıf öğrencileri katılarak olumsuz sonuç belirtmişlerdir. 1. ve 2. sınıf öğrencileri ise ne katılıp ne katılmadıklarını ifade etmişlerdir.

Yağların, protein ve karbonhidratlara göre daha az enerji içerdiğini ifade eden maddeye 1., 2., 3. ve 5. sınıf öğrencileri yüksek oranda katılmayarak olumlu sonuç bildirirken, 4. sınıf öğrencileri ne katılıp ne katılmadığını belirtmişlerdir.

Araştırmaya katılan öğrencilerden kadın ve erkek öğrenciler havucun iyi bir A vitamini kaynağı, karbonhidratların temel enerji kaynağı, dondurulmuş ürünlerin besin değerinin taze besinlerden daha düşük, yumurta ile kırmızı etin içerdikleri protein miktarı açısından benzer, kuru fasulye piyazının lif içeriğinin yüksek, salam ve sosis gibi işlenmiş et ürünlerinin içindeki yağların sağlığımız için zararlı, süt ve süt ürünlerindeki kalsiyum mineralinin kemik ve diş sağlığı için önemli, kemik erimesinden korunmada görevli olan D vitamininin en iyi kaynağının güneş, portakalda bulunan C vitamininin bağışıklığın güçlenmesini sağlayarak soğuk algınlığı ve gribal enfeksiyonlara karşı koruyucu, içeriğinde bulunan vitaminler nedeniyle tam tahıllı ekme tüketmenin sinir sistemi için faydalı, kırmızı etin içeriğinde bulunan B<sub>12</sub> vitamininin unutkanlığı önlemede etkili ve rengi kırmızı ve mor olan sebze ve meyvelerin kanserden koruyucu olduğunu ifade eden maddelere yüksek oranda katılarak olumlu sonuç bildirmişlerdir.

Kadın ve erkek öğrenciler E vitamininin görme duyusu için oldukça iyi olduğunu ifade eden maddeye katılarak olumsuz sonuç belirtmişlerdir.

Doğal taze sıkılmış meyve sularının şeker içerdiğini, vitamin ve minerallerin enerji verdiğini, meyvelerin yüksek protein içerdiğini, zeytinyağı tüketmenin kolesterolü yükselttiğini, tuzun fazla tüketilmesinin tansiyonu etkilemediğini ve yağların, protein ve karbonhidratlara göre daha az enerji içerdiğini ifade eden maddelere kadın ve erkek öğrenciler yüksek oranda katılmayarak olumlu sonuç bildirmişlerdir.

Balığın doymuş yağ içeriğinin kırmızı etten daha yüksek olduğuna yönelik maddeye kadın ve erkek öğrenciler ne katılıp ne katılmadıklarını ifade etmişlerdir.

Veteriner Fakültesi'nde öğrenim gören 18-19, 20-21, 22-23, 24-25, 26 ve üzeri yaş aralığındaki öğrenciler havucun iyi bir A vitamini kaynağı, karbonhidratların temel enerji kaynağı, dondurulmuş ürünlerin besin değerinin taze besinlerden daha düşük, yumurta ile kırmızı etin içerdikleri protein miktarı açısından benzer, kuru fasulye piyazının lif içeriğinin yüksek, salam ve sosis gibi işlenmiş et ürünlerinin içinde bulunan yağların sağlığımız için zararlı, süt ve süt ürünlerindeki kalsiyum mineralinin kemik ve diş sağlığı için önemli, kemik erimesinden korunmada görevli olan D vitamininin en iyi kaynağının güneş, portakalda bulunan C vitamininin bağışıklığın güçlenmesini sağlayarak soğuk algınlığı ve gribal enfeksiyonlara karşı koruyucu, içeriğinde bulunan vitaminler nedeniyle tam tahıllı ekme tüketmenin sinir sistemi için faydalı ve kırmızı etin içeriğinde bulunan B<sub>12</sub> vitamininin unutkanlığı önlemede etkili olduğunu ifade etmişlerdir.

Doğal taze sıkılmış meyve sularının şeker içerdiğini, vitamin ve minerallerin enerji verdiğini, meyvelerin yüksek protein içerdiğini, zeytinyağı tüketmenin kolesterolü yükselttiğini, tuzun fazla tüketilmesinin tansiyonu etkilemediğini ve yağların, protein ve karbonhidratlara göre daha az enerji içerdiğini ifade eden maddelere 18-19, 20-21, 22-23, 24-25, 26 ve üzeri yaş aralığındaki öğrenciler yüksek oranda katılmayarak olumlu sonuç bildirmişlerdir.

E vitamininin görme duyusu için oldukça iyi olduğunu ifade eden maddeye 20-21, 22-23, 24-25, 26 ve üzeri yaş aralığındaki öğrenciler yüksek oranda katılıp olumsuz sonuç bildirirken, 18-19 yaş aralığındaki öğrenciler ne katılıp ne katılmadıklarını ifade etmişlerdir.

Kırmızı ve mor renkli sebze ve meyvelerin kanserden koruyucu olduğunu ifade eden maddeye 18-19, 20-21, 22-23 yaş aralığındaki öğrenciler katılarak olumlu sonuç bildirirken, 24-25, 26 ve üzeri yaş aralığındaki öğrenciler ne katılıp ne katılmadıklarını belirtmişlerdir.

Balığın doymuş yağ içeriğinin kırmızı etten daha yüksek olduğuna ifade eden maddeye 22-23, 26 ve üzeri yaş aralığındaki öğrenciler katılarak olumsuz sonuç bildirirken, 18-19, 20-21 ve 24-25 yaş aralığındaki öğrenciler ne katılıp ne katılmadıklarını belirtmişlerdir.

### **Besin Tercih Öleşinden Elde Edilen Bulgular**

Veteriner Fakültesi 1., 2., 3., 4. ve 5. sınıf öğrencileri şeker hastalarının meyve suyu yerine meyvenin kendisini tüketmelerinin daha sağlıklı olduğunu, şekerli gıdalar yerine lifli gıdalar tüketmenin kabızlığı önlediğini, gıdalarla alınan yağ miktarını azaltmak için bireyin tavuğu kızartma yerine ızgara olarak tercih etmesi gerektiğini, bir öğünde aldığı protein miktarını artırmak için kişinin yumurtalı ıspanak yemeğini bulgurlu ıspanak yemeğine tercih etmesi gerektiğini, ara öğünde tatlı bisküvi yerine kepekli galeta tüketmenin daha doğru bir seçim olduğunu, çocukların beslenme çantasına 3-4 adet kuru kayısı koymanın gofret koymaktan daha faydalı olduğunu, bir yetişkinin sıvı gereksinimini çay ve kahve gibi içecekler yerine su tüketerek karşılmasının daha doğru olduğunu, hayvansal kaynaklı besinlerin içerisindeki proteinlerin, vücut sağlığı için çok önemli olduğunu, tuz alımını azaltmak için lahana turşusu yerine lahana salatasının tercih edilmesi gerektiğini ve gıdalardan alınan yağın miktarını azaltmak isteyen birisinin light süt tercih edebileceğini ifade eden maddelere yüksek oranda katılarak olumlu sonuç bildirmişlerdir.

Vitaminleri ve mineralleri besinlerden almak yerine, ilaç formundaki vitaminlerden almanın daha faydalı olduğunu ifade eden maddeye 1., 2., 3. ve 5. sınıf öğrencileri yüksek oranda katılmayarak olumlu, 4. sınıflar katılarak olumsuz sonuç bildirmişlerdir.

Beyaz ekmeğin tam tahıllı ekmeğe göre daha sağlıklı olduğunu ifade eden maddeye 1., 2., 3., 4. ve 5. sınıf öğrencileri yüksek oranda katılmayarak olumlu sonuç bildirmişlerdir.

Kadın ve erkek öğrenciler şeker hastalarının meyve suyu yerine meyvenin kendisini tüketmelerinin daha sağlıklı olduğunu, şekerli gıdalar yerine lifli gıdalar tüketmenin kabızlığı önlediğini, gıdalarla alınan yağ miktarını azaltmak için bireyin tavuğu kızartma yerine ızgara olarak tercih etmesi gerektiğini, bir öğünde aldığı protein miktarını artırmak için kişinin yumurtalı ıspanak yemeğini bulgurlu ıspanak yemeğine tercih etmesi gerektiğini, ara öğünde tatlı bisküvi yerine kepekli galeta tüketmenin daha doğru bir seçim olduğunu, çocukların beslenme çantasına 3-4 adet kuru kayısı koymanın gofret koymaktan daha faydalı olduğunu, bir yetişkinin sıvı gereksinimini çay ve kahve gibi içecekler yerine su tüketerek karşılmasının daha doğru olduğunu, hayvansal kaynaklı besinlerin içerisindeki proteinlerin, vücut sağlığı için çok önemli olduğunu, tuz alımını azaltmak için lahana turşusu yerine lahana salatasının tercih edilmesi gerektiğini ve gıdalardan alınan yağın miktarını azaltmak isteyen birisinin light süt tercih edebileceğini ifade eden maddelere yüksek oranda katılarak olumlu sonuç bildirmişlerdir.

Vitaminler ve mineralleri besinlerden doğrudan almak yerine, ilaç formundaki vitaminlerden almanın daha faydalı ve beyaz ekmeğin tam tahıllı ekmeğe göre daha sağlıklı olduğunu ifade eden maddelere kadın ve erkek öğrenciler yüksek oranda katılmayarak olumlu sonuç bildirmişlerdir.

Veteriner Fakültesi'nde öğrenim gören 18-19, 20-21, 22-23, 24-25, 26 ve üzeri yaş aralığındaki öğrenciler şekerli gıdalar yerine lifli gıdalar tüketmenin kabızlığı önlediğini, gıdalarla alınan yağ miktarını azaltmak için bireyin tavuğu kızartma yerine ızgara olarak tercih etmesi gerektiğini, bir öğündeki aldığı protein miktarını artırmak için kişinin yumurtalı ıspanak yemeğini bulgurlu ıspanak yemeğine tercih etmesi gerektiğini, ara öğünde tatlı bisküvi yerine kepekli galeta tüketmenin daha doğru bir seçim olduğunu, çocukların beslenme çantasına 3-4 adet kuru kayısı koymanın gofret koymaktan daha faydalı olduğunu, bir yetişkinin sıvı gereksiniminin çay ve kahve gibi içecekler yerine su tüketerek karşılması daha doğru olduğunu, hayvansal kaynaklı besinlerin içerisindeki proteinlerin, vücut sağlığı için çok önemli olduğunu, tuz alımını azaltmak için lahana turşusu yerine lahana salatasının tercih

edilmesi gerektiğini ve gıdalardan alınan yağın miktarını azaltmak isteyen birisinin light süt tercih edebileceğini ifade eden maddelere yüksek oranda katılarak olumlu sonuç bildirmişlerdir.

Şeker hastalarının meyve suyu yerine meyvenin kendisini tüketmelerinin daha sağlıklı olduğunu ifade eden maddeye 18-19, 20-21, 22-23, 24-25 yaş aralığındaki öğrenciler yüksek oranda katılarak olumlu sonuç bildirirken, 26 ve üzeri yaştaki öğrencilerin katılan ve ne katılıp ne katılmadığını ifade edenlerin sayısı birbirine eşittir.

Vitaminler ve mineralleri besinlerden doğrudan almak yerine, ilaç formundaki vitaminlerden almanın daha faydalı ve beyaz ekmeğin tam tahıllı ekmeğe göre daha sağlıklı olduğunu ifade eden maddelerine 18-19, 20-21, 22-23, 24-25, 26 ve üzeri yaş aralığındaki öğrenciler yüksek oranda katılmayarak olumlu sonuç bildirmişlerdir

### **Sonuç Tartışma ve Öneriler**

Araştırmaya katılan öğrencilerin temel beslenme ölçeğine verdikleri cevaplar ile yüksek oranda iyi seviyede temel beslenme bilgisine sahip oldukları saptanmıştır. Besin tercihi ölçeğine verdikleri cevaplarda da yüksek oranda iyi seviyede besin tercihlerinde bulunduğu belirlenmiştir. Yıldız (1992) yaptığı çalışmada öğrencilerin %41,5'inin orta, %34,9'unun kötü, %23,6'sının iyi düzeyde beslenme bilgisine sahip olduğunu belirlemiştir. Cho ve Yu'nun (2007) lise kız öğrencilerinin beslenme bilgi, tutum ve alışkanlıklarını belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada öğrencilerin beslenme bilgisinin düşük olduğu ve en çok atladıkları öğünün kahvaltı olduğu ifade edilmiştir. Bu çalışmaya katılan veteriner fakültesi öğrencilerinin karbonhidrat, protein, lipid, vitamin ve minerallerin yapısını ve metabolizmasını kapsayan biyokimya dersini aldıkları için iyi seviyede beslenme bilgi düzeyine sahip oldukları düşünülmektedir. Ancak öğrencilerin beslenme bilgisi maddelerine daha yüksek oranda doğru yanıt verdiği halde besin tercihlerinin daha düşük olması, öğrencilerin besin seçimlerine gereken önemi vermediğini ve bilgilerini davranışa dökmediğini düşündürmektedir.

Araştırmaya katılan veteriner fakültesi öğrencilerinin eğitim gördükleri sınıf ile temel beslenme bilgileri ve besin tercihleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ). Sarper ve Çetin'in (2013) tıp fakültesi öğrencileri üzerinde yaptığı bir çalışmada ise temel beslenme bilgisi sorularına birinci sınıf öğrencilerinin altıncı sınıf öğrencilerine göre daha az doğru cevap verdikleri saptanmıştır. Kresic ve ark.'nın (2009) üniversite öğrencileri üzerinde yaptıkları çalışmada kadın öğrenciler ile son sınıftaki öğrencilerin beslenme bilgi düzeyi puanlarının daha yüksek olduğu belirlenmiştir. En yüksek beslenme bilgisine sahip öğrencilerin diyet uyumlarının en düşük beslenme bilgisine sahip öğrencilere kıyasla on iki kat daha fazla olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada öğrencilerin beslenme bilgi düzeylerinin 1. sınıftan 5. sınıfa doğru artması beklenirken birbirine yakın olması, öğrencilerin günümüzde eğitim hayatı dışında da beslenme bilimine duyduğu ilginin arttığını ve gençlerin beslenme ile ilgili bilgiye ders dışı kaynaklardan da ulaştığını düşündürmektedir.

Araştırmaya katılan veteriner fakültesi öğrencilerinin cinsiyetleri ile temel beslenme bilgileri arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir ( $p > 0,05$ ). Astarlı (2008) tarafından yürütülen çalışmada kız öğrencilerin toplam genel beslenme bilgi puanının erkek öğrencilerden anlamlı derecede yüksek olduğu belirlenmiştir. Erten (2006) çalışmasında kız öğrencilerin beslenme bilgi puanlarının (26,95) erkek öğrencilerin beslenme bilgi puanlarından (23,78) daha yüksek olduğunu saptamıştır. Gündoğdu (2009), okulöncesi öğretmenlerinin beslenme bilgi düzeylerini belirlemek amacıyla yaptığı çalışmada öğretmenlerin beslenme hakkındaki bilgi düzeyleri ile cinsiyetleri arasındaki ( $p < 0,05$ ) ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olduğunu ve kadın öğretmenlerin (15,7024±3.83) erkek öğretmenlere (12,6±2,4) göre daha yüksek ortalama puana sahip olduğunu saptamıştır. Vançelik ve ark.'nın (2007) yaptıkları çalışmada kızların beslenme bilgisi puan ortalamasının erkeklerden daha yüksek olduğu ve bunun istatistiksel olarak da anlamlı olduğu belirtilmiştir. Öğrencilere uygulanan besin tercihi ölçeğinde sorulan sorularla öğrencilerin cinsiyet değişkeni arasındaki farklılaşma incelendiğinde kadınlar lehine anlamlı bir farklılık görülmüştür ( $p < 0,05$ ). Kang ve Lee (2006) Kore'de ortaokul öğrencileri arasında yaptıkları bir çalışmada kız öğrencilerin beslenme bilgi düzeylerinin erkeklere göre daha yüksek olduğunu, beslenme davranışlarında ise cinsiyete göre anlamlı bir farklılık olmadığını belirlemiştir. Astarlı'nın (2008) tıp fakültesi öğrencileri üzerinde yaptığı bir çalışmada öğrencilerin cinsiyetlerine göre toplam beslenme davranış puanı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır. Yapılan birçok çalışmada ise kadınların erkeklere kıyasla daha az yağlı besinleri ve

daha sağlıklı beslenmeyi tercih ettikleri belirlenmiştir (Roininen ve ark., 2000). Bu araştırmada ise erkek öğrenciler ile kadın öğrencilerin temel beslenme bilgi düzeyleri arasında anlamlı bir farklılığın bulunmaması öğrencilerin yaşlarının ve eğitim düzeylerinin yakın olmasıyla bağdaştırılabilir. Öğrencilerin besin tercihleri ile cinsiyetleri arasında ise istatistiksel açıdan anlamlı olduğu bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Kadın öğrenciler ile erkek öğrencilerin temel beslenme bilgileri yakın olduğu halde besin tercihlerinin kadınlar lehine olması, kadınların beden algısını ve sağlıklı yaşamı daha çok önemsediklerini ve bu nedenle daha bilinçli seçimler yaptıklarını düşündürmektedir.

Araştırmaya katılan öğrencilerin yaşları ile temel beslenme bilgi düzeyleri ve besin tercihleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p > 0,05$ ). Demirezen ve Coşansu'nun (2005) adölesan dönemindeki öğrencilerin beslenme alışkanlıkları üzerine yaptıkları araştırmada sağlıklı beslenme alışkanlıklarının yaşla birlikte arttığını belirtmişlerdir. Batmaz (2018) ise yetişkinler üzerinde yaptığı araştırmada beslenme bilgi düzeylerinin yaşa bağlı olduğunu saptamıştır. Bu farklılığın nedeni bireylerin çevreleri, eğitim durumları ve ekonomik olanakları gibi faktörlerin eşitsizliğini düşündürmektedir.

Araştırmaya katılan öğrencilerden beslenme ile sağlık arasındaki ilişkinin derecesine 10 cevabını verenlerin sayısı çoğunlukta, günlük hayatta uyguladıkları besin tercihlerini çoğunlukla 5 olarak değerlendirmeleri öğrencilerin sağlıklı yaşam için gerekli özeni göstermediklerini düşündürmektedir.

Her kesimden bireyin ücretsiz olarak ulaşabildiği halk eğitim merkezlerinde ailelerin ve genç nesillerin uzman kişiler tarafından bilinçlendirilmesi sağlanarak daha sağlıklı bireyler yetiştirilebilir. Beslenme eğitimi almak isteyen öğrencilerin oranının ortalamadan üzerinde olması göz önünde bulundurulduğunda fizyolojik gereksinimlerimizden biri olan beslenme üniversitelerde seçmeli ders olarak verilebilir. Temel gereksinimlerimizden biri olan beslenmenin kişisel ihtiyaçlarımıza özgü düzenlenip bireylerin beslenme alışkanlıklarını buna göre oluşturması için diyetisyenlerin okullarda eğitim vermesi önerilmektedir.

#### KAYNAKLAR

1. Açık Y, Çelik G, Ozan AT, Oğuzöncül AF, Devenci SE, Gülbayrak C. (2003). Üniversite öğrencilerinin beslenme alışkanlıkları. Sağlık ve Toplum; 13 (4): 74-80.
2. Astarlı Ö. (2008). Marmara üniversitesi tıp fakültesi 1. ve 5. sınıf öğrencilerinde beslenme bilgi düzeylerinin ve beslenme alışkanlıklarının değerlendirilmesi. Marmara Üniversitesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı, İstanbul, Yüksek Lisans Tezi. 78-113.
3. Batmaz H. (2018). Yetişkinler için beslenme bilgi düzeyi ölçeği geliştirilmesi ve geçerlik-güvenirlik çalışması. Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Yüksek Lisans Tezi.
4. Baysal A. (1990). Beslenme.5. Baskı, Ankara, Hacettepe Üniversitesi Yayınları. A/61.
5. Baysal A. (2004). Beslenme. 10. Baskı, Ankara, Hatiboğlu Yayınevi. 2004; 520.
6. Baysal A. (2011). Beslenme. 13. Baskı, Ankara, Hatiboğlu Yayınevi. 2011; 9-115.
7. Cho SH, Yu HH. (2007). Nutrition knowledge, dietary attitudes, dietary habits and awareness of food-nutrition labelling by girl's high school students. *Korean J Community Nutr*, 12(5): 519-533.
8. Court JM. (1988). Nutrition and adolescents: An overview of concerns in western society. *Med J Aust Special Supplement*; 1: 148.
9. Çakırcalı E. (1998). Hemşirelikte temel ilke ve uygulamalar. 2. Baskı, İzmir, Ege Üniversitesi Matbaası. 149-154.
10. Demirezen E, Coşansu G. (2005). Adölesan çağı öğrencilerde beslenme alışkanlıklarının değerlendirilmesi. *Sürekli Tıp Eğitim Dergisi*. 14(8): 174-178.
11. Dölekoğlu CÖ, Yurdakul O. (2004). Adana ilinde hane halkının beslenme düzeyleri ve etkili faktörlerin logit analizi ile belirlenmesi. *Akdeniz İ.İ.B.F. Dergisi* 8; 62-86.

12. Erten M. (2006). Adıyaman ilinde eğitim gören üniversite öğrencilerinin beslenme bilgilerinin ve alışkanlıklarının araştırılması. Gazi Üniversitesi Eğitim Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Yüksek Lisans Tezi, 92-95.
13. Fraenkel JR, Wallen L. (2006). How to design and evaluate research in education. New York: McGraw-Hill International Edition.
14. Gündoğdu S. (2009). Adana ilinde görev yapan okulöncesi öğretmenlerinin beslenme bilgi düzeyleri ve alışkanlıklarının araştırılması. Selçuk Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, Konya, Yüksek Lisans Tezi. 90-93.
15. Kang HW, Lee SS. (2006). A study on weight control and dietary life among middle school students: Nutrition knowledge, dietary behavior and food frequency. *J Nutr Health*. 39(8): 817-831.
16. Kresic G, Jovanovic GK, Zedelj SP, Cvijanovic O, Ivezic G. (2009). The effect of nutrition knowledge on dietary intake among croatian university students. *Coll Antropol*. 33(4): 1047-1056.
17. Mazıcıoğlu M, Öztürk A. (2003). Üniversite 3 ve 4. sınıf öğrencilerinde beslenme alışkanlıkları ve bunu etkileyen faktörler. *Erciyes Tıp Dergisi*. 25: 172-178.
18. McArdle W, Katch FI, Katch LV. (2007). Exercise physiology, energy, nutrition and human performance. 6. Edition, Lippincott Williams & Wilkins.
19. Roininen K, Lähtenmäki L, Tuorila H. (2000). An application of means-end chain approach to consumers' orientation to health and hedonic characteristics of foods. *Ecology of Food and Nutrition*. 39: 61-81.
20. Sabbağ Ç. (2003). İlköğretim okullarında görevli öğretmenlerin beslenme alışkanlıkları ve beslenme bilgi düzeyleri. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Yüksek Lisans Tezi, 1-2.
21. Sarper F, Çetin G. (2013). Tıp fakültesi birinci ve son sınıfa devam eden öğrencilerin beslenme bilgi ve alışkanlıkları üzerine bir araştırma. *21. Yüzyılda Eğitim ve Toplum*. 2(6): 84-104.
22. Vançelik S, Önal SG, Gürakın A, Beyhun E. (2007). Üniversite öğrencilerinin beslenme bilgi ve alışkanlıkları ile ilişkili faktörler. *TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni*, 6(4): 242-248.
23. Yıldız B. (1992). Diyarbakır il merkezinde yaşayan adölesanlarda şişmanlık prevalansı beslenme alışkanlıkları ve bilgi düzeyleri enerji tüketimi ve harcamalarına ilişkin bir araştırma. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Bilim Uzmanlığı Tezi.
24. Yumurturuğ S, Sungur T. (1980). Hijyen koruyucu hekimlik. 1. Baskı, Ankara, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınevi. 159-346.

#### **Etik Kurul Onayı**

Bu araştırma için Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sosyal ve Beşeri Bilimler Etik Kurulundan 09.05.2019 tarihinde 2019-152 sayılı onay alınmıştır.

**KEDİLER İÇİN ÖLÜMCÜL BİR TEHDİT: FELİNE İNFEKSİYÖZ PERİTONİTİS**  
**A FATAL THREAT TO CATS: FELINE INFECTIOUS PERITONITIS**

**Büşra TALAN<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Veteriner Hekim, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü*

<sup>1</sup>*Veterinerlik İç Hastalıkları Tezli Yüksek Lisans, Hatay, Türkiye*

<sup>1</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5396-3906>*

**Serkan İrfan KÖSE<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>*Dr. Öğr. Üyesi, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi*

<sup>2</sup>*İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye*

<sup>2</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3189-6690>*

**ÖZET**

Feline İnfeksiyöz Peritonitis (FİP), *Feline İnfeksiyöz Peritonitis Virus* (FIPV) tarafından oluşturulan, kedilerin viral, sistemik ve mortalitesi yüksek bir hastalığıdır. Virusun in vivo mutasyonlarla kedinin kendi vücudunda *Feline Enterik Coronavirus*'dan (FECV) geliştiği varsayılmaktadır. Feline İnfeksiyöz Peritonitis, 3-36 aylık, çok sayıda kedinin bir arada bulunduğu, stres faktörlerinin elimine edilmediği, safkan kedi popülasyonlarında daha yaygındır. Irk yatkınlığı olduğu varsayılmaktadır. Feline İnfeksiyöz Peritonitis'in ıslak ve kuru olmak üzere iki formu vardır. Islak form ağırlıklı olarak 2 yaşın altındaki kedilerde şekillenirken, kuru form 10 yaş üstü hayvanlarda daha yaygındır. Islak form vücut boşluklarında efüzyonlar ile karakterizeyken, kuru formda çeşitli organlarda piyogranülomatöz lezyonlar şekillenir. Doğal FİP vakaları için kuluçka dönemi bilinmemektedir. Ancak ıslak form akut seyirliken, kuru form daha kroniktir. İki formda da ortak görülen halsizlik, iştahsızlık, ateş, kilo kaybı, sarılık ve lenfadenopati gibi spesifik olmayan klinik belirtiler vardır. Kuru formda nörolojik belirtiler ve göz lezyonları görülebilir. Teşhis için detaylı bir anamnez, fiziksel muayene, laboratuvar bulguları ve birtakım invaziv yöntemlere (seroloji, RT-PCR, histopatolojik inceleme ve immunohistokimya) başvurulur. Hastalığın teşhisinde RT-PCR başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Hastalığın prognozu kötüdür. Henüz kesinleşmiş etkin bir tedavisi yoktur ancak bu konuda başarı elde edilmiş ilaç deneme çalışmaları vardır. Bu nedenle hastalığın şekillenmesini önleyecek korunma yöntemlerine ağırlık verip bu konu üzerine yoğunlaşmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Kedi, FİP, Mutasyon, Yaş Form, Efüzyon

**ABSTRACT**

Feline Infectious Peritonitis (FIP) is a viral, systemic and high mortality disease of cats produced by Feline Infectious Peritonitis Virus (FIPV). It is assumed that the virus evolved from Feline Enteric Coronavirus (FECV) in the cat's own body through mutations in vivo. FIP is more common in purebred cat groups aged 3 to 36 months, in which many cats coexist and stress factors are not eliminated. FIP has two forms: wet and dry. While the former is characterized by effusions in the body cavities, the latter forms pyogranulomatous lesions in various organs. In natural FIP cases, the incubation period is unknown. However, while the wet form has an acute course, the dry form is more chronic. There are non-specific clinical features such as fatigue, anorexia, fever, weight loss, jaundice and lymphadenopathy common in both forms. A detailed anamnesis, physical examination, laboratory findings, and some invasive methods (serology, reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR), histopathology, and immunohistochemistry) are used for diagnosis. RT-PCR has been used successfully in the diagnosis of the disease. The prognosis for the disease is poor. There is no definite effective treatment yet, but there are successful drug trials in this regard. For this reason, in addition to



the treatment of the disease, prevention methods that will prevent its formation should be emphasized, and studies on this subject should be continued.

**Keywords:** Cat, Effusion, FIP, Mutation, Wet Form

## 1.GİRİŞ

*Feline Coronavirus* (FCoV) enfeksiyonu ilk kez 1942 yılında Nepal’de Bonaduce tarafından tespit edilmiş (4), ancak ilk defa 1963 yılında Dr. Jean Holzworth tarafından ‘Bazı Önemli Kedi Hastalıkları’ olarak rapor edilmiştir (20). *Feline Coronavirus*’ların oluşturdukları hastalıkların patogeneze göre apatojen *Feline Enterik Coronavirus* (FECV) ve patojen *Feline İnfeksiyöz Peritonitis Virus* (FIPV) olmak üzere 2 farklı biyotipi vardır (34). *Feline Enterik Coronavirus*, sağlıklı kedilerin çoğunda tespit edilebilir ve hafif bir enfeksiyon ile karakterizedir (31). *Feline İnfeksiyöz Peritonitis Virus* ise kedilerin çok azında Feline İnfeksiyöz Peritonitis’e (FİP) sebep olur ve neredeyse her zaman öldürücü seyredir (8).

## 2.FELİNE İNFEKSİYÖZ PERİTONİTİS

### 2.1.Etiyoloji

*Coronavirüsler*, Uluslararası Virus Taksonomi Komitesi (ICTV) tarafından *Nidovirales* takımı içerisinde bulunan *Coronaviridae* ailesinde sınıflandırılmaktadır. *Feline İnfeksiyöz Peritonitis Virus*, *Alphacoronavirus* cinsine aittir (52). *Feline Coronavirus* virionları, genellikle kübiktir ve 80-120 nm arasındadır. Glikoprotein yapısındaki dış zarfın içinde, helikal simetrik bir nükleokapsid bulunur. *Feline Coronavirus*, 11 açık okuma çerçevesinden (ORFs) oluşur. Bunların 2 tanesi bir replikazı kodlarken, 4 tanesi yapısal proteinleri, 5 tanesi de yapısal olmayan proteinleri kodlar. Yapısal proteinler; spike (S), zarf (E), membran (M) ve nükleokapsid (N)’dir. Yapısal olmayan proteinler ise; 3a, 3b, 3c, 7a ve 7b’dir (30). *Feline Coronavirus*’un oda sıcaklığında 24-48 saat içinde inaktive olduğu, nemli olmayan kuru koşullarda (örneğin halıda) 7 haftaya kadar hayatta kaldığı gösterilmiştir. Zarflı bir virus olduğu için çoğu ev dezenfektanı ve deterjanı tarafından kolayca yok edilebilir (18).

*Feline Coronaviruslar*’ın kedilerin sindirim kanalında apatojen olarak bulunan FECV ve ölümcül klinik hastalık tablosuna neden olan patojen FIPV olmak üzere iki biyotipi bulunmaktadır (9). *Feline Coronavirus*’un bilinen 2 serotipi vardır. Bunlar, serotip 1 ve serotip 2’dir. Doğal olarak enfekte olmuş kedilerde bulunan saha suşlarının büyük çoğunluğunu serotip 1 temsil eder. Serotip 1 FCoV ile *Canine Coronavirus* (CCoV) arasındaki rekombinasyon olaylarını takiben ortaya çıkan serotip 2 ise nadiren görülür. Serotip 2 FCoV’ler konakçı hücre reseptörü olarak aminopeptidaz N’i (APN) kullanırlar. Serotip 1 FCoV’lerin reseptörü ise bilinmemektedir (19, 22, 49).

### 2.2.Epidemiyoloji

*Feline Coronaviruslar*’a karşı kedi popülasyonlarının yaklaşık %90’ında antikor geliştiği düşünülmeye rağmen, bu kedilerin sadece %5-10’u kadarında FİP gelişir (18, 23). Bu %5-10’luk dilimi genellikle genç safkan kedi popülasyonları oluşturur (23). Hastalığın prevalansı 3-36 aylık, çok sayıda kedinin bir arada bulunduğu evlerde ya da barmaklarda çok yaygındır (17). Ancak FİP, genellikle 1 yaşından küçüklerde görülür (37). Yapılan çalışmalarda; Habeş, Bengal, Birman, Himalaya, Ragdoll, ve Rex ırkı kedilerde prevalansın daha yüksek olduğu (17, 23, 39); Burma, Egzotik Kısa Tüylü, Mavi Rus, Manks, İran ve Siyam kedilerinde ise hastalık insidansının düşük olduğu bildirilmektedir (23, 39, 45). Hastalığın ıslak (efüzif) ve kuru (efüzif olmayan) olmak üzere iki formu bulunmaktadır (9). Islak form daha çok 2 yaş altı hayvanlarda meydana gelirken, kuru form ise 10 yaş üstü hayvanlarda görülmektedir (4).

Stres, FİP hastalığının gelişimine katkıda bulunabilir (22). Ancak, hastalık gelişimine predispozisyon yaratan stres faktörlerinin kimliği henüz tartışmalıdır. Hasta kedilerin, kalabalık barındırılan kedi barmaklarında kalmaları, yeni birine sahiplenilmeleri, yakın zamanda bir ameliyat (örneğin, kısırlaştırma veya amputasyon işlemi vb.) geçirmeleri veya daha basit olarak görülen sosyal hiyerarşideki değişiklikler gibi olayların kedide oluşturduğu stres geçmişi önemlidir (18).

Bulaşma, genellikle FECV enfeksiyonu olan ya da FİP hastası olan kedilerin dışkılarıyla saçılan FCoV'yi sağlıklı kedilerin oronazal olarak almasıyla gerçekleşir. Feline İnfeksiyöz Peritonitis'e neden olan mutasyona uğramış FCoV'lere, FİP'li kedilerin gaita ve sekretlerinde rastlanmamıştır (18). Dolaylı fomit iletimi mümkündür. Sağlıklı kediler için asıl FCoV kaynağı, enfekte kedilerle paylaşılan tuvaletlerdir. Birden fazla kedinin aynı kedi kumunu paylaşması etkenin kediler arasında kolayca yayılmasına neden olur (1, 18).

### 2.3.Patogenez

Feline İnfeksiyöz Peritonitis'e neden olan FIPV'nin ortaya çıkması ile ilgili ortaya atılan iki hipotez vardır. Bunlar 'in vivo mutasyon' ile 'dolaşan virü lent ve avirü lent FCoV'ler' hipotezidir (23). Günümüzde, FECV'nin kalıcı enfeksiyonları sırasında mutasyonlar yoluyla FIPV'nin ortaya çıktığı yaygın olarak kabul edilmektedir. Fakat bu gelişim esnasında hangi mutasyon(lar)ın hangi aşamada meydana geldiği anlaşılamamıştır (23).

Son zamanlarda, FİP'in patogenezi üzerine yapılan çalışmalarda araştırmacılar S geni üzerine yoğunlaşmışlardır. Bir çalışmada FECV ve FIPV'lerin genom dizisi analiz edilmiş, bu analiz sonucu FIPV'lerin büyük çoğunluğunun S geninde FECV'lerden farklı olarak 2 nokta mutasyonu belirlenmiştir (12). Spike geninde şekillenen mutasyonların FİP oluşumu ile korelasyon gösterdiğine dair güçlü kanıtlar elde edilmiştir (12). Yapılan çalışmalarda S genindeki etkilenen bölgelerdeki aminoasit değişikliklerinin virusun hücrel tropizmini etkilediğini ve bunun sonucunda artık enterositlere değil monosit ve makrofajlara affinitesinin arttığı belirtilmektedir (49, 50).

Feline İnfeksiyöz Peritonitis'in patogenezi 3 faktörün rol oynadığı vurgulanmaktadır. Bunlar; mutasyona uğramış virü lent FCoV ile sistemik enfeksiyon, monosit ve makrofajlarda etkili FIPV replikasyonu ve FIPV ile enfekte olmuş monositlerin aktivasyonudur (23). Konakta sistemik enfeksiyonun şekillenebilmesi için öncelikle virusun vücuda alınması gerekir. Ancak FIPV dışarıdan alınamayıp, konağın kendi vücudu içerisinde FECV'den mutasyonlar sonucu şekillenmektedir. *Feline Coronavirus*'ların replike olabilmeleri için, önce konağı hücre membranına tutunmaları gerekir. Bu tutunmanın gerçekleşebilmesi için FCoV'lerin S proteinlerindeki spesifik bağlanma alanları kullanılır ve bu bağlanma için yüzey reseptör uyumu da gereklidir. *Alphacoronaviruslar*'ın geneli yüzey reseptörü olarak APN'yi kullanırlar (52). *Feline Enterik Coronavirus*'un S proteini de bu yüzey reseptörünü kullanarak hücreye girer. Virus hücreye girdikten sonra mutasyon geçirecek FIPV'ye dönüşür. Bu mutasyon monositlerde gerçekleşir. Mutasyonun şekillenmesinde etkili olan faktörler; etkenin miktarı, vücuda giriş yolu, yaş, çeşitli stres faktörleri, bağışıklık sistemini etkileyen immun supresif hastalıkların varlığı ve genetik duyarlılıktır (6).

Makrofajların viral replikasyonda rolü olduğu çok açıktır. Hastalığın hem ıslak hem de kuru formunda çeşitli dokulara virus taşıyan makrofajlar karakteristik olarak organların perivasküler alanları ve retiküloendoteliyal sistemde kümeler şeklinde bulunur (52). *Feline İnfeksiyöz Peritonitis Virus* enfeksiyonunun kedilerdeki monosit ve makrofaj proliferasyonunu tetiklediği belirtilmektedir. Ancak bu proliferasyonu aniden tetikleyen mekanizma(lar) hala tam olarak netlik kazanmamıştır (24). Aktive olmuş monositlerde çok miktarda tümör nekroz faktör-alfa (TNF- $\alpha$ ), interlökin-1beta (IL-1 $\beta$ ) gibi sitokinler ve CD11b ile CD18 gibi adezyon molekülleri eksprese edilir (31). Bunlar makrofajlarda viral enfeksiyonun aktivasyonunu tetikler ve vasküler geçirgenlikte değişikliklere (permeabilite artışı) sebep olurlar (52). Ayrıca FIPV ile enfekte olan monosit ve makrofajlarda vasküler endoteliyal büyüme faktörü üretilir. Bu faktöründe etkisiyle damar permeabilitesi iyice artar ve vücut boşluklarında efüzyonlar şekillenir (31). Kılcal damar endotel hücrelerinin retraksiyonu, plazma proteinlerinin eksudasyonuna ve dolayısıyla karakteristik proteinden zengin eksudatın oluşumuna neden olur (29). Spesifik antikorlar oluşuktan sonra viral replikasyon en az 2 hafta devam eder. Makrofajlar FIP lezyonlarındaki en yaygın inflamatuvar hücrelerdir (7). Nötrofil lökositler ise FIPV enfeksiyonlarına hassas olmamalarına rağmen, henüz bilinmeyen mekanizmalarla aktive olurlar (31).

### 2.4.Bağışıklık

Feline İnfeksiyöz Peritonitis için pasif bağışıklık anneden gelen maternal antikorlar ile sağlanır. Anneden alınan bu antikorlar yavru yaklaşık 5-6 haftalık olana kadar koruma sağlar. Bu antikor düzeyleri 6-8 haftalıkken düşer ve saptanamaz hale gelir (3, 4).

*Feline Enterik Coronavirus*'un mutasyona uğrayarak doğal enfeksiyon oluşturması halinde, klinik bulguların özellikleri ve ortaya çıkma süresi, konağın bireysel immün yanıtına bağlıdır (36). Güçlü bir humoral yanıt ve zayıf bir hücrel yanıtın görülmesi hastalığın ıslak formunun şekillenmesine sebep olurken; humoral yanıtla birlikte yeterince aktive olmayan hücrel yanıtta ise kuru form şekillenir. Güçlü bir hücrel yanıt hastalık oluşumunu kontrol altında tutabilir (32). *Feline İnfeksiyöz Peritonitis Virus* enfeksiyonlarında gelişen antikor titresini virusun ortadan kaldırılmasında etkili değildir. Bu durum tam tersine, daha önce FCoV'ye karşı aşılanmış kedilerde FİP gelişimini indüklemektedir. Antikor varlığında FİP gelişiminin hızlanması, antikor bağımlı fenomen ile açıklanmaktadır (18, 36).

## 2.5.Klinik Bulgular

Hastalık tipik olarak; fibrinöz ve granülatöz serozit, proteinden zengin seröz efüzyonlar ve / veya çeşitli organlarda pyogranülatöz lezyonlarla karakterizedir ve lezyonların dağılımı her bir vakada farklılık gösterir (23). Vaskülit ve piyogranülatöz lezyonların dağılımındaki değişkenlik klinik tabloyu şekillendirir (3). Hastalığın iki formu vardır. Bunlar vücut boşluklarında (abdomen, toraks ve perikard gibi) sıvı birikimi ile karakterize olan efüzif (ıslak) form ve çeşitli organlarda pyogranülatöz lezyonlarla karakterize olan efüzif olmayan (kuru) formdur. Vakaların bir kısmı 'karışık form' denilen, iki form arasında bir geçiş aşaması olarak değerlendirilir. Karışık formda postmortem muayenede, sıklıkla organlardaki geniş serozal granülatöz lezyonların yanı sıra değişen miktarlarda efüzyonlara da rastlanır (23). Doğal FİP vakaları için kuluçka dönemi bilinmemekle birlikte deneysel enfeksiyondan sonra inkubasyon periyodunun, ıslak form için 2-14 gün; kuru form için birkaç hafta arasında değiştiği ifade edilmektedir (23). Her iki formda da ortak olarak görülen yaygın spesifik olmayan semptomlar vardır. Bu semptomlar; antibiyotiklere ve non-steroid anti-inflamatuar ilaçlara (NSAİİ) dirençli dalgalı ateş, uyuşukluk, iştahsızlık, kilo kaybı (veya daha genç kedilerde kilo alamama / büyüme geriliği), sarılık (ıslak FİP'te daha yaygın) ve lenfadenomegalidir. Ancak bazen vakalar sağlıklı görünüp, vücut kondisyonunu koruyabilirler (3, 49).

Vakaların %75'inde ıslak FİP şekillenir (3). Islak formda iştah azalmış ya da normal olabilir. Abdominal palpasyonda genişlemiş lenf düğümleri ele gelebilir. İkterus görülebilir. Kan damarları etkilendiği için vücut boşluklarında sıvı ve plazma proteinleri birikimi görülür (53). Asites, ıslak formun en belirgin bulgusudur. Torasik ve perikardiyal efüzyonlar da şekillenebilir. Bazı erkek kedilerin skrotumunda da efüzyonlar şekillenebilir (3, 49). Islak FİP oldukça akuttur. Birkaç gün veya hafta içinde ilerler ve hayatı ciddi şekilde tehlikeye sokar. Bu kedilerde vücut boşluklarında sıvı birikimine bağlı abdominal gerginlik ve dispne / taşipne de görülebilir (3).

Kuru FİP daha kroniktir ve birkaç haftadan aylara kadar yayılabilir (49). Hastalığın erken evrelerinde yalnızca ateş, iştahsızlık ve uyuşukluk gibi spesifik olmayan genel semptomlar görülebilir (3). İlerleyen zamanda; nörolojik belirtiler ve / veya oküler belirtilerle ilişkilendirilir (49). *Feline İnfeksiyöz Peritonitis* kedilerin en az %10'unda beyin, omuriliğin ve meninkslerin fokal, multifokal veya generalize tutulumu ile ilişkili nörolojik belirtiler rapor edilmektedir (3). En sık bildirilen semptomlar; ataksi, hiperestezi, opistotonus, nistagmus, paraliz, inkoordinasyon, tremor, nöbetler, davranış değişiklikleri ve kranial sinir hasarlarıdır (13). Oküler lezyon üveittir, anterior ve / veya posterior olabilir. İris renginde değişiklikler ile karakterize iritis şekillenir. Gözde dumanlı bir görünüm vardır. İritise sekonder olarak ortaya çıkan diskori ve anizokori, ani görme kaybı ve hifema şekillenebilir. İriste şişme ve nodüler bir yüzey görünümü olabilir, aqueous flare (humor aközde protein varlığı) saptanabilir (3, 49, 53). Kuru FİP'te böbrek tutulumu palpasyonla anlaşılacak renomegaliye yol açabilir. Kolon ve ileoekokolik bileşkede bazen bağırsak duvarında lezyonlar şekillenebilir (3, 53). Mezenterik lenf düğümlerinde palpe edilebilir genişlemeler şekillenebilir (3). Kuru FİP'te tipik olarak boyun ve lateral göğüs duvarında çoklu, küçük, kaşıntılı olmayan papüller veya nodüller olarak kendini gösteren dermatolojik lezyonlar da bildirilmektedir (49, 53).

## 2.6.Teşhis

Teşhis noktasında en önce kapsamlı bir anamnez alınıp, hastanın öyküsü not edilmeli, ardından detaylı bir fiziksel muayene ile klinik semptomlar belirlenmelidir (13). Tanıda laboratuvar bulgularına (tam kan sayımı ve serum biyokimyası) da başvurulmalıdır. Ancak tek başına eşkal, öykü, klinik ve laboratuvar bulgularına dayalı kesin bir tanı koyulamayacağından, bu parametreler her zaman daha invaziv ve moleküler diğer tanı testleriyle birlikte değerlendirilmelidir (16). Hastalığın ölüm öncesi teşhisi,

özellikle belirgin efüzyonu olmayan kedilerde zordur. Etkilenmiş kedilerde yanlış bir FİP teşhisi koymamak için, özgüllük her zaman dikkate alınması gereken en önemli tanı değeridir (16).

### 2.6.1.Laboratuvar Bulguları

#### 2.6.1.1.Tam Kan Sayımı ve Serum Biyokimyası

Feline İnfeksiyöz Peritonitisli kedilerin tam kan sayımında lenfopeni yaygın görülür (3, 49, 53). Fakat 'stres lökogramı' olarak bilinen nötrofil ile birlikte lenfopeni varlığı, diğer birçok hastalıkta da ortaya çıkabilir. Bununla birlikte normal bir lenfosit sayısı FİP'i olası kılmaz (3). Nötrofil lenfopeni kadar yaygın değildir (42, 49). Hafif ila orta derecede normositik, normokromik, rejeneratif anemi yaygın görülen bir bulgu olsa da bu durumun kedilerin hemen hemen tüm kronik hastalıklarında ortaya çıkabileceği ifade edilmektedir (3, 49).

Feline İnfeksiyöz Peritonitis vakalarında serum biyokimyasındaki değişiklikler; hiperglobulinemi, hiperbilirubinemi ve akut faz proteinlerindeki (APP) artışı gösterir (49). Karaciğer enzimleri, üre ve kreatinin gibi laboratuvar parametreleri yükselebilir ancak tanıda çok yardımcı olmaz; çünkü bu parametrelerdeki yüksek değerler FİP lezyonlarının bir sonucu olan organ hasarını yansıtır fakat diğer birçok hastalıkta da yükselebileceği unutulmamalıdır (3).

Hiperglobulinemi, vakaların %89'unda (efüzyonlu kedilerin yaklaşık %50'sinde, efüzyonu olmayan kedilerin ise yaklaşık %70'inde), sıklıkla hipoalbuminemi veya düşük-normal serum albumin değerleri ile rapor edilmektedir (3, 16, 49). Serum total protein seviyeleri  $\geq 120$  g/L konsantrasyonlarına ulaşabilir (3). Hiperglobulinemi ve hipoalbuminemi / düşük-normal albumin konsantrasyonu, albümin/globulin (A:G) oranının düşük olduğu anlamına gelir (49). Albumin/globulin oranı tek bir parametreden daha yüksek bir tanısal değere sahiptir, çünkü karaciğerin etkilendiği durumlarda hem albumin hem de globulin azalır. Albumin/globulin oranlarıyla ilgili faydalı eşik değer raporları çeşitlilik göstermesine rağmen; çoğunluk 0,4'ün altındaki oranların FİP'i çok olası kıldığı; 0,8'in üstündeki oranların ise FİP'i çok olası kılmadığı yönündedir (49).

Hiperbilirubinemi ve sarılık sık görülür ve çoğunlukla hepatik nekrozu yansıtır. Hemoliz yokluğunda (şiddetli anemi olmadığında) yüksek bilirubin seviyeleri ve karaciğer enzim aktivitesinin yükselmesi FİP şüphesini artırmalıdır (3). Özellikle efüzif FİP'te, alanin aminotransferaz (ALT), alkalin fosfataz (ALP) ve  $\gamma$ -glutamiltansferaz (GGT) enzim aktivitesinde belirgin bir artış olmaksızın hiperbilirubinemi görülebilir (49).

Feline İnfeksiyöz Peritonitisli kediler genellikle serumda alfa 1-asit glikoprotein (AGP), serum amiloid A (SAA) veya haptoglobulin gibi APP'lerinin belirgin şekilde artan konsantrasyonlarını sergilerler (16). Serumda AGP'nin ölçümü FİP tanısında yardımcı olabilir. Alfa 1-asit glikoprotein yükselmeleri ( $>0,48$  mg/ml) kendi başına FİP için spesifik olmasa da FİP vakalarında sıklıkla belirgin yüksek AGP seviyeleri ( $>1,5$  mg/ml) görülür (49). Bu sebepten artışın büyüklüğü FİP teşhisine yardımcı olabilir ve negatif bir AGP ölçümü potansiyel olarak FİP'i dışlayabilir. Ancak bu parametreler kendi başlarına FİP için patognomik değildir (3, 16).

#### 2.6.1.2.Efüzyon Sıvısı Analizi

Feline İnfeksiyöz Peritonitisli bir kedinin tipik efüzyon sıvısı; saman sarısı renkte, visköz, berrak veya orta derecede bulanık ve yüksek protein içeriği nedeniyle pıhtı ya da fibrin oluşturur (16). Ancak vücut boşluklarında birçok farklı nedenden efüzyonlar şekillenebilir (3). Bu nedenle efüzyonların makroskopik ve sitolojik incelenmesi (hücre sayısı ve biyokimyasal parametrelerin belirlenmesi) diğer farklı tanıları dışlamak veya doğrulamak için önemlidir. Feline İnfeksiyöz Peritonitisli kedilerden alınan tipik efüzyonların yüksek protein içeriği ( $>35$  g/l), düşük A:G oranı (oran  $<0,4$  ise yüksek pozitif prediktif değere (PPV),  $0,8 >$  ise yüksek negatif prediktif değere (NPV) sahiptir) ve oldukça düşük toplam hücre sayısı (ml'de  $<5000$  çekirdekli hücre) olmasına rağmen, bu bulgular diğer etiolojilerin efüzyonlarında da ortaya çıkabilir. Efüzyon sıvısında makrofaj ve nötrofil hakimiyeti vardır (16, 23). Feline İnfeksiyöz Peritonitis ile diğer hastalıklara ait efüzyonları ayırt etmek için yaygın olarak kullanılan test Rivalta'dır. Ancak bu test spesifik değildir. Testin FİP için %86'lık bir PPV ve %96'lık yüksek bir NPV'si vardır. Bu test sadece yüksek protein içeriğinde değil, aynı zamanda yüksek konsantrasyonlarda fibrinojen ve inflamatuvar mediatörlerin varlığında da pozitif reaksiyona yol açar (3).

Bu testi gerçekleştirmek için şeffaf bir reaktif tüpüne (10 ml'lik) 7-8 ml distile su koyulup ve birkaç damla asetik asit (%98'lik) eklenip iyice karıştırılır. Efüzyon sıvısından damlalıklarla örnek alınıp hazırlanan solüsyonun yüzeyine dikkatlice 1 damla bırakılır. Damla şeklini koruyamaz ve çözelti berrak kalırsa, Rivalta testi negatif olarak yorumlanır. Damla şeklini koruyor ve yüzeye bağlı kalıyorsa veya yavaşça tüpün dibine doğru yüzüyorsa (denizanası görünümü) Rivalta testi pozitif olarak yorumlanır (3, 49).

### 1.6.2.Seroloji

*Feline Coronavirus* antikor testi birçok hekim tarafından FİP testi zannedilip yanlış anlaşılmaktadır (2). Bilindiği kadarıyla FİP'e spesifik bir antikor testi olmamakla birlikte, ölçülebilecek tek şey FCoV'e karşı oluşan antikorlardır (3). Ancak *Feline Coronaviruslar*'a karşı antikorlar, kedi barınakları veya çok kedili evlerde yaşayan hayvanların %80-90'ında ve yalnız yaşayan kedilerin %50'sine yakınında bulunur ve bu seropozitif kedilerin sadece %1-5'inde FİP gelişir (43). Pozitif bir FCoV antikor testi, kedinin FCoV ile enfekte olduğunu ve ölçülebilir antikor titresine sahip olduğunu gösterir (49), FİP için tanısal değere sahiptir ancak FİP'in kesin teşhisine olanak vermez. Bu yüzden sonuçlar mutlaka klinik semptomlarla birlikte yorumlanmalıdır (3, 43).

Günümüzde ticari olarak mevcut testler, indirekt immunofloresan antikor testleri (IFAT), enzime bağlı immunosorbent antikor testleri (ELISA) ve hızlı immunokromatografik (RIM) testlerdir (2). Bir *Feline Coronavirus* antikor testinde arzu edilen 5 nitelik belirlemiştir. Bunlar yüksek hassasiyet, yüksek özgüllük, az miktarda numune ile sonuç alabilme, efüzyonun yanı sıra tam kan, plazma veya serum kullanarak antikor bakabilme yeteneği ve virus varlığında da testin duyarlı olmasıdır. Bunlara ek olarak sonucun hızlı verilmesi ve belli bir antikor titresinin belirlenmesi de gereklidir (2).

### 2.6.3.Ters Transkriptaz-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR)

Günümüzde kullanılan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) tekniği, vücut sıvılarında ve doku örneklerinde FCoV'nin saptanması için değerli bir araç haline gelmiştir (43). Ters Transkriptaz-Polimeraz Zincir Reaksiyonu, FİP şüpheli kedilerin doku örnekleri, efüzyon, kan, beyin omurilik sıvısı (BOS) veya humor aköz numunelerinden FCoV ribonükleik asitini (RNA) saptamak için kullanılabilmesinin yanı sıra dışkı numuneleri üzerinde de gerçekleştirebilir. Fakat bu işlem FİP teşhisine yardımcı olmaktan ziyade kedilerin toplu barındırıldığı ortamlarda enfeksiyonun yönetimine yönelik virüsü saçan kedilerin tespiti amacıyla kullanılabilir (49).

Ancak M geni analizi yapan RT-PCR tekniği yalnızca virulent FCoV'leri değil, sağlıklı kedilerdeki avirulent FCoV'leri de tespit eder. Bu yüzden tek başına pozitif bir RT-PCR sonucu FİP için kesin tanıya izin vermez (43). Bunun nedeni şöyle açıklanabilir, önceden avirulent FCoV'lerin yalnızca sindirim sistemi ile sınırlı kaldığı ve bağırsak epiteli ile bölgesel lenf düğümlerinin ötesine yayılmadığı belirtilmekteydi. Ancak beklenmedik bir şekilde avirulent FCoV'lere, hiç FİP gelişmemiş sağlıklı kedilerin periferik kan örneklerinde (makrofajlarda) de rastlandığı bildirilmektedir (43). Bunun üzerine RT-PCR'ın periferik kandaki mononükleer hücrelerde avirulent FCoV'lerin varlığı ile bu hücrelerde replikasyon yeteneği kazanan FCoV'lerin varlığını ayırt edemediği anlaşılmıştır (43).

Spike geni içindeki mutasyonlar özel primerler kullanılarak, spesifik S geni analizi gerçek zamanlı RT-PCR (RT-qPCR) ile veya RT-qPCR'den sonra dizileme yapılarak da saptanabilir (54). Bu analiz, tüm FCoV türlerini tespit edebilecek korunmuş bir bölgeyi hedefleyen bir PCR amplikon setini ve aranan mutasyon için 3' ucunda primerlerden birinin spesifik olduğu ikinci bir seti içerir ve mutasyona spesifik primer, yalnızca mutasyon mevcutsa bağlanır (54). Yakın zamanda yapılmış bir çalışmada, FİP'li tüm kedilerin en az bir vücut sıvısı veya doku örneğinde, S geni mutasyonları içeren FCoV bulunmuş olup ve bu dağılım kediden kediyeye değişiklik gösterir. Bu nedenle duyarlılığı artırmak için birden fazla örneğin analiz edilmesi önerilir (55). *Feline İnfeksiyöz Peritonitis*'e özgü olduğu düşünülen S geni mutasyonlarının tespiti için spesifik primerler kullanan özel S geni RT-PCR'lerinin, daha sonraki çalışmalarda FİP olmayan kedilerde de pozitif sonuç verdiği öne sürülmektedir (54). Ancak anamnez ve kedinin klinik belirtileri FİP ile uyumluysa ve RT-qPCR kullanılarak efüzyon veya doku örneklerinde FCoV RNA'sı saptanırsa, o zaman kedinin FİP'ye sahip olma olasılığının yüksek olduğu vurgulanmaktadır (54).

#### 2.6.4. Histopatolojik İnceleme ve İmmunohistokimya

Feline İnfeksiyöz Peritonitis'in tipik sitolojik ve histopatolojik özellikleri ile bağlantılı olarak, efüzyonlarda veya biyopsilerde immün boyama yoluyla FCoV antijeninin gösterilmesi, FİP'in kesin tanısını sağlar (18, 49). Histopatolojik inceleme için karaciğer, böbrek veya mezenterik lenf nodları gibi dokuların etkilenen bölgelerinden, ölümden önce ultrason eşliğinde perkutan iğne biyopsisi, laparoskopi veya laparotomi gibi çeşitli invaziv yöntemlerle doku örnekleri toplanabilir. Fakat bu işlemlerin invaziv olması hasta kedilerde bunu çoğu zaman engellediğinden, numuneler genelde yüksek FİP şüphesi nedeniyle ötenaziden sonra, otopsi sırasında toplanabilir (49).

Hastalığın teşhisi için altın standart, enfekte makrofajlar içeren efüzyonlar veya lezyonlar üzerinde yapılan immunohistokimya'dır (31). Bu yöntem, efüzyonlardaki makrofajlarda immunofloresan veya doku örneklerinde immunohistokimya ile FCoV antijeninin gösterilmesini içerir. *Feline Coronavirus* sağlıklı kedilerde sistemik olarak mevcut olabilirken, sadece FİP durumunda makrofajlarda pozitif boyama ile sonuçlanabilecek yeterli viral antijen olacaktır. Efüzyonlardaki makrofajlarda hücre içi FCoV antijeninin pozitif boyanması, FİP için %100 öngörücü olabilirken, %57'lik bir NPV olabilir (3).

#### 2.7. Ayırıcı Tanı

Toksoplazmozis, lenfositik kolangitis, neoplazi (lenfoma veya abdominal karsinoma gibi), pankreatitis, retroviral enfeksiyon / *Feline Immünyetmezlik Virus* enfeksiyonu (FIV) / *Feline Lösemi Virus* (FeLV) enfeksiyonu, tüberkülozis, piyotoraks, sepsis, septik peritonitis, konjestif kalp yetmezliği, kuduz, travma, lizozomal depolama hastalığı ve serebellar hipoplazi ayırıcı tanıda değerlendirilmelidir (13, 49).

#### 2.8. Tedavi

Günümüzde FİP için kesin bir tedavi metodu ve korunma yolu yoktur (5). Bu hastalık için tedavi denemesi ya da ötenazi, kesin bir tanı elde etmek için her türlü çaba gösterildikten sonra düşünülmelidir (3). Terapötik amaç, immün aracılı yangının neden olduğu klinik belirtileri kontrol etmek veya azaltmak olarak bildirilmektedir (13). Feline İnfeksiyöz Peritonitis'in tedavisinde temelde iki yaklaşım vardır. Birincisi kedinin FCoV'ye karşı bağışıklık tepkisinin değiştirilmesi, ikincisi ise FCoV replikasyonunun doğrudan inhibisyonudur (22). Bu amaçlara yönelik kullanılan temelde iki ilaç grubu vardır. Bunlar, immunsupresanlar ve antivirallerdir (3). Tedavide ayrıca çeşitli antibiyotikler (klindamisin, koamoksilav, sefovesin ve metronidazol) ve anti-inflamatuar (meloksikam) ilaçlar da kullanılmaktadır (51).

Feline İnfeksiyöz Peritonitisli kedilerin immünstimulan ilaçlar kullanılarak tedavi edilmesi, FİP'in patogenezinin inflammatuar yanıtı aşması nedeniyle tartışmalıdır. Çünkü immünstimulan ilaçların kullanılması, potansiyel olarak hastalığın ilerlemesini şiddetlendirebilir (11). Bu nedenle bazı araştırmacılar FİP'li kedilerde bağışıklığın uyarılmasından kaçınılması gerektiğini savunmaktadır (3). Ancak bağışıklığın baskılanması FİP patogenezinde önemli bir bileşen olduğundan, bağışıklık sistemini uyarıcı bir ilacın kuru FİP'li kedilerin hayatta kalma sürelerini artıracığı da ifade edilmektedir (27). Bu amaçla poliprenil immünstimulan (PI) hafif kuru FİP formuna sahip 3 kedide denenmiş ve kedilerden biri 14 ay, diğer ikisi ise 2 yılın üstünde hayatta kalmıştır. Yapılan bu çalışmanın sonucunda PI'nın FİP'li kedilerin ömrünü uzattığı öne sürülmektedir (26).

Siklosporin A, antikoronavirus aktivitesine sahip (25); siklofilin inhibitörü olan bir ilaçtır (11). Yapılan bir çalışmada bazı immunofilinlerin, *Coronavirus* yapısal olmayan protein 1 (NSP1) ile güçlü bir etkileşime girdiği belirtilmektedir (40). Siklosporin A ise *Coronavirüsler*'in replikasyonunu bu güçlü etkileşimi kesintiye uğratarak inhibe eder (11, 25). Siklosporin A'nın hücre kültüründe FCoV replikasyonunu inhibe etme yeteneği doğrulanmış ancak, in vivo olarak test edilmemiştir (48). Ayrıca Siklosporin A, FİP'li kedileri tedavi etmek için immunsupresif bir ilaç olarak da kullanılmaktadır (3, 11).

Klorokin'in in vitro şartlarda FIPV replikasyonunu inhibe ettiği ve anti-inflamatuar özelliklere sahip olduğu bildirilmektedir (11). Virüsün hücreye girişi ve bunun anti-inflamatuar etkileri sırasında endozomal asidifikasyonu azaltarak FIPV replikasyonunu in vitro olarak engelleyebildiği vurgulanmaktadır (28). Klorokin ile yapılan deneysel enfeksiyonlarda, tedavi edilen gruplarda tedavi edilmeyenlere göre klinik belirtilerin azaldığı, ancak tedavi edilen gruplarda ALT seviyelerinin toksik olarak arttığı ifade edilmektedir (46). Kedilerde Klorokin'in dozunu ve toksisitesini azaltmak için, diğer

ajanlarla kombinasyonlarının daha fazla araştırılması gerektiği de vurgulanmaktadır (11). Siklosporin A ve Klorokin gibi antiviral ilaçların kullanımıyla ilgili bir sorun bulunmaktadır. *Coronavirüsler* kendi replikasyonlarını kolaylaştırmak için normal hücresel yolları kullanırlar. Klorokin ve Siklosporin gibi bileşikler ise antiviral etkilerini gösterirken, konakçıya ve virusa ait mekanizmaları ayıramazlar. Bu durum konakçıda toksik etkilere yol açabilmektedir (25).

Galanthus Nivalis Agglutinin (GNA) ve Nelfinavir'in birlikte, in vitro FCoV replikasyonunu kısmen inhibe edebildiği bildirilmektedir (11, 25). Bir çalışmada GNA ile Nelfinavir'i in vitro olarak birlikte kullanmışlar ve bu bileşiklerin birlikte sinerjistik etki göstererek FCoV enfeksiyonunun neden olduğu sitopatik efekt (CPE) odaklarının oluşumunu önemli ölçüde inhibe ettiğini bildirmişlerdir (21). Hatta GNA'nın etkisinin Nelfinavir'den daha fazla olduğunu; Nelfinavir'in bilinen yan etkisinin hafif ishalken, GNA için herhangi bir yan etki olmadığını da bildirmektedirler (21). Galanthus Nivalis Agglutinin ve Nelfinavir'in antiviral etkilerinin konsantrasyona bağlı olup olmadığını belirlemek için bir çalışma daha yapılmış ve farklı konsantrasyonlarda GNA ve Nelfinavir test edilmiştir. Galanthus Nivalis Agglutinin'in denenen tüm konsantrasyonlarda FCoV'e güçlü inhibitör aktivite gösterdiği, Nelfinavir'in ise 9,41µM konsantrasyonunun CPE oluşumunu önemli ölçüde engellediği belirtilmektedir. Hücre canlılığı testleri GNA'nın, Nelfinavir'den daha geniş bir konsantrasyon aralığında güvenli bir şekilde kullanılabilirliğini göstermektedir. Nelfinavir'in yüksek konsantrasyonlarda antiviral aktivite gösteriyor oluşu, bileşiğin sitotoksitesi nedeniyle daha fazla test edilememiştir (21, 25).

*Feline Coronavirus*'un viral replikasyon periyodunun kolesterol ile yakından ilişkili olduğu bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada plazma membran kolesterolündeki artışın, serotip 1 FCoV enfeksiyonunu arttırdığı bildirilmektedir (47). U18666A, bir kolesterol transport inhibitörüdür. Kolesterol biyosentezini ve intrasellüler transportunu bozan katyonik amfifilik bir ilaçtır. Hücre içi kolesterol biyosentezini 'oksidokualen siklazı' baskılayarak inhibe eder. Bununla birlikte, kolesterol taşıyıcısı Niemann-Pick tip C1'in (NPC1) de inhibitörüdür. Niemann-Pick tip C1'i bağlar ve işlevine engel olur. Ayrıca NPC1'in fonksiyonunu da bozarak lizozomlardan kolesterol salınımını da baskılar (10). Yapılan bir çalışmada, U18666A'nın intrasellüler kolesterol birikimini indüklediğini ve serotip 1 FCoV replikasyonunu baskıladığını, ancak serotip 2 FCoV enfeksiyonu üzerinde kayda değer bir etki gösteremediğini ve böylece serotip 2 FCoV replikasyonunun plazma membran kolesterolüne bağlı olmadığını ortaya çıkarmışlardır (45).

İtrakonazol (ICZ), düşük toksisiteye sahip bir antifungaldır (25). İtrakonazol'ün kedi hücre kültüründe FCoV'nin serotipleri üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, ICZ ile muamele edilen serotip 1 FCoV enfeksiyonunda plak oluşumunun doza bağlı bir şekilde azaldığı bildirilmektedir (44). Aynı çalışmada ICZ'nin serotip 1 FCoV enfeksiyonunu inhibe ettiği, ancak serotip 2 FCoV enfeksiyonunu etkilemediği de ifade edilmektedir. Feline İnfeksiyöz Peritonitisli kedilerin %70-90'ının FCoV serotip 1 ile enfekte olduğu düşünüldüğünde, ICZ'nin bir anti-FIPV ajanı olarak kullanımının mümkün olabileceği görülmektedir (25).

Günümüzde RNA virus replikasyonunda yer alan spesifik proteinleri hedef alan küçük moleküllerin FİP'in çeşitli formlarını yüksek derecede güvenle iyileştirebildiği bildirilmektedir. Bu küçük moleküller, bir proteaz inhibitörü olan GC376 ve bir nükleozid analogu olan GS-441524'ü içerir (33). Bu iki antiviral ilaç, viral RNA transkripsiyonunu sonlandırarak veya viral poliproteinlerin bölünmesini bloke ederek viral replikasyonu bloke ederler (25).

*Coronavirus* 3C benzeri bir proteaz olan GC376 ile yapılan bir çalışmada doğal olarak enfekte olan FİP'li 20 kedide her 12 saatte 1 sefer, 15 mg/kg dozda deri altı uygulama yapılmış; tedavi süresince 20 kediden 13'ünde hastalığın sürekli nüks ettiği ve tedaviye yanıt alınmadığı; 7 kedinin ise minimum 12 haftalık tedavi süresinden sonra hayatta kaldığı belirlenmiştir. GC376'nın görülen yan etkileri arasında enjeksiyon bölgesinde hafif ağrı, bazen fibrozis ve tüy dökülmesinin yanı sıra 16-18 haftadan küçük kedilerde kalıcı dişlerin gelişiminin yavaş olduğu vurgulanmaktadır (35). GC376 ile minimum tedavi süresi 12 hafta olarak belirlenmiştir (38). Bu çalışma, FİP'in tedavi edilmediği takdirde ölümle sonuçlanabilecek bir aşamada tedaviye başlanıldığı zaman, antiviral tedavinin kedilerin tamamen iyileşmesini sağlayabileceğini göstermektedir (11).

Bir nükleozid analogu olan GS-441524 ile doğal FİP gelişmiş 31 kedi üzerinde bir saha çalışması yapılmış, şiddetli hastalık tablosu ile başvuran 31 kediden 4'ünün ilk 5 gün içinde öldüğü, 5. kedinin ise 26 gün sonra öldüğü görülmüştür. Kalan 26 kedide ise 12 hafta süre ile günde 1 sefer 2 mg/kg dozda deri altı yolla bir tedavi planlanmış ve 12 hafta sonunda doz 4 mg/kg'a kadar yükseltilmiştir. Bu 26 kediden 18'inin primer tedaviden sonra sağlıklı kaldığı, 8'inde ise nüks görüldüğü belirlenmiştir. Nüks görülen 8 kediden 3'ünde aynı dozda tedavi tekrar edilmiş, kalan 5 kedinin ise uygulama dozu 4 mg/kg'a kadar çıkarılmıştır. İkinci kez daha yüksek dozda tedavi edilen bu 5 kedinin tedaviye iyi yanıt vererek sağlıklı kaldığı ancak aynı dozda tedavi edilen 3 kediden 1'inde nörolojik nüks gözlemlenerek ötenazi uygulandığı rapor edilmektedir. Kalan 2 kedide ise tedaviye olumlu yanıt görülmesine rağmen tekrardan nüks görülmüş ve bu 2 kediye de yüksek dozda 3. kez tedavi uygulanması sonrasında iyileşerek uzun süre hayatta kaldıkları belirlenmiştir. Böylece en az 12 hafta boyunca, günde 1 sefer, 4 mg/kg deri altı olarak GS-441524 uygulamasının FİP için güvenli ve etkili bir tedavi olabileceği belirlenmiştir (38).

Feline İnfeksiyöz Peritonitis immun aracılı bir hastalık olduğundan destekleyici tedavide, genellikle kortikosteroidler (prednizolon / deksametazon) humoral yanıt dahil olmak üzere immun yanıtın olumsuz yönlerini bastırmak için uzun yıllardır kullanılmaktadır (3, 5, 22). Kortikosteroid uygulamaları bir miktar palyatif rahatlama sağlayabilir ancak sonucu değiştirmezler. Siklosporin A, Siklofosamid, Klorambusil ve Azatiyoprin ise yine bağışıklığı baskılamaya yönelik ilaçlardır. Bu ilaçlar kortikosteroidlerin kullanım dozunu düşürürler (3). Geleneksel olarak kortikosteroidlerle Siklofosamid birlikte kullanılarak klinik bulgular en aza indirilmeye çalışılır (5, 11). Salisilik asit (trombosit inhibitör dozu) ise hem yangısal yanıtı hem de vaskülit tedavi etmeyi amaçlar. Pentoksifilin de vaskülit tedavisine yönelik bir ilaçtır (3). Pentoksifilin, sitokin (özellikle TNF- $\alpha$ ) salınımını inhibe ederek vaskülitin şiddetini azaltıp, aşırı efüzyon riskini önler (6).

## 2.9.Prognoz

Hastalığın prognozu kötüdür (3, 14). Hastalık gelişmesiyle birlikte, 3 ila 200 gün arasında değişen sağkalım süresi bildirilmektedir (14). Kesin teşhis koyulduktan sonra, ortalama sağkalım süresi yaklaşık 9 gündür. Bu kısa sağkalım süresinin nedenleri arasında; düşük lenfosit sayıları, yüksek bilirubin seviyeleri ve büyük hacimli efüzyonlar yer alır. Kedinin yaşam kalitesinin düştüğü noktada, hekim tarafından ötenazi önerilmelidir (3, 14).

## 2.10.Hastalık Yönetimi ve Korunma

*Feline Coronavirus*'un 5'ten az kedi olan hanelerde kendiliğinden ve doğal olarak arınabileceği, ancak 10'dan fazla kedinin bir arada barındığı hanelerde bunun neredeyse imkansız olduğu, çünkü virusun sürekli bir kediden diğerine geçerek enfeksiyonu sürdüreceği bildirilmektedir (18). Çok kedili bir evde, bir kedide bile FİP geliştiğinde, o kediyle temas halinde olan diğer tüm kedilerin de zaten FCoV'ye maruz kaldığı düşünülmektedir. Böyle bir durumda hastayı izole etmeye gerek olmadığı ifade edilmektedir (1, 14, 18). Çünkü FİP'li bir kedi ile teması olan diğer tüm kedilerin FCoV'yi aldıktan sonra, vücutlarında FİP gelişimini önleyebilecek neredeyse hiçbir koruyucu önlemin olmadığı kabul edilmektedir (18). Bir barınakta veya çok kedili bir hanede FCoV'yi kontrol altına almanın kilit noktası, ortamdaki viral yükü en aza indirmektir (14). *Feline Coronavirus*'u ortadan kaldırmada kafesteki / evdeki kedi sayısını azaltmanın (özellikle 12 aylıktan küçük yavru kediler), fazla miktarda virus saçanlarla az miktarda virus saçanları ve FCoV negatif olan kedileri ayrı ayrı gruplandırmanın, stresi azaltmanın, eş zamanlı hastalıkları kontrol altına almanın ve FCoV ile kontamine olabilecek muhtemel yüzeyleri temiz tutmanın virusun popülasyon yükünü azaltmada en etkili yöntemler olduğu vurgulanmaktadır (14, 18).

Yavru kedilerde FCoV'nin yönetimi önemlidir (18). Yavru kedilerin annelerinden erken ayrılması ve diğer kedilerden izole edilmesinin, bu kedilerde FCoV enfeksiyonunu önlemede başarılı olabileceği öne sürülmekte ve FCoV'nin kontrolünde erken süttten kesme ve izolasyonun başarısı, etkili bir karantinaya ve evde az sayıda kedi (5'in altında) buldurmaya bağlanmaktadır (18). Virus, fomitler yoluyla çok kolay bulaştığından özellikle izolasyonun etkili bir kontrol yöntemi olmadığı da bildirilmektedir (14). Feline İnfeksiyöz Peritonitis'e yatkınlık için henüz iyi belirlenmiş genetik bir bileşen olmasa da hastalıktan etkilenen 2 veya daha fazla yavru doğurmuş kedilerin üreme programından çıkartılması tavsiye edilmektedir (14).



Tek kedili hanelerde FİP geliştiği zaman, hastanın ötenazisinden sonra yeni bir kedi sahiplenmek için 2 ay beklenilmesi önerilmektedir (14). Bağışıklığı baskılanmış olan kediler dışkılarıyla çok daha fazla virus saçtığından ve mutant suşlarla savaşıma konusunda daha az yeteneğe sahip olduklarından, FİP'in yönetimi için FeLV ve FIV gibi sekonder hastalıkların da taranması önerilir. Streste, kediler için çok önemli bir etkidir. Gürültü, aşırı kalabalık ve yetersiz havalandırma belirli bir popülasyonda FİP'in gelişmesine katkıda bulunabilecek birçok stres faktöründen birkaçıdır (14). *Feline Coronavirus* dışkı veya fomitler yoluyla bulaştığı için kedi popülasyonlarında enfeksiyonun yönetiminde uygun temizlik ve dezenfeksiyonun şart olduğu bir gerçektir (14). *Feline Coronavirus*'un orta derecede dirençli bir virus olduğu ve çamaşır suyu gibi çoğu ev dezenfektanı tarafından yok edilebileceği bildirilmektedir (1). Evdeki tekstil ürünlerinin çamaşır makinalarında ve mutfak araç-gereçlerinin bulaşık makinalarında 60°C'de yıkanması önerilmektedir (1). Feline İnfeksiyöz Peritonitis gelişen kedilerin hospitalize edilmesine gerek olmadığı, ancak plöral efüzyon olduğu durumlarda kedinin solunumunun deprese olmaması için hospitalize edilip, düzenli aralıklarla torasentez tedavisi uygulanması gerektiği bildirilmektedir. Çeşitli ilaç denemeleri için de FİP'li kedilerin hospitalize edilebileceği bildirilmektedir (1).

Bu hastalık için şu anda ruhsatlandırılmış sadece bir aşı (Felocell FIP, Zoetis) mevcuttur ve bunun FCoV enfeksiyonuna karşı koruma ve hastalık gelişimini önleme kabiliyeti konusunda çok ciddi fikir ayrılıkları vardır (1, 41). Neredeyse tüm kedilerin FCoV'ye karşı antikora sahip olduğu 138 kedi üzerinde yapılan bir saha çalışmasında, aşıli kediler ile plasebo alan kediler arasında FİP gelişimi yönünden hiçbir fark saptanmadığı ifade edilmektedir (15). Aşı ile ilişkili advers olayların (41) yanında yine aşı kaynaklı ölümler şekillendiği de öne sürülmektedir (6). Vücudunda zaten FCoV antikorları bulunan kedilerde, aşılama ile vücuda virus verildiğinde, önceden mevcut olan antikorlar makrofajlara virus alımını artırarak, hastalığın klinik belirtilerinin daha hızlı ortaya çıkmasını sağlarlar. Buna antikora bağlı gelişme denilmektedir (13). Bu nedenle FİP vakası olduğu bilinen evlere veya FCoV'nin endemik olduğu ve dolayısıyla yüksek riskli olan ortamlara kedi girişi yapılacaksa, bu kedi ya da kedilerin aşılmasının avantajlı olabileceği bildirilmektedir (1). *Feline Coronavirus* aşısı, modifiye canlı adjuvansız bir aşıdır. Bu aşı için bir FCoV suşu olan DF2-FIPV'nin ısıya duyarlı, kedilerin üst solunum yollarının düşük ısısında replike olabilen, ancak sistematik sıcaklıklarda replike olamayan mutan geliştirilmiştir (6, 41). On altı haftalıktan büyük olan kedilere burun içi olarak uygulanır (14). Uygulandıktan sonra immunglobulin A artışı yaparak lokal immunitiyi güçlendirmektedir (6). Amerikan Kedi Pratistleri Derneği'nin 2006 Kedi Aşısı Danışma Paneli, FİP'e karşı aşılama önermediğini bildirmiş ve aşığı tavsiye edilmeyenler listesine yerleştirmiştir (41). Aşı Türkiye'de dahil olmak üzere birçok ülkede mevcut değildir (1).

### 3.SONUÇ

Feline İnfeksiyöz Peritonitis, kedilerde çoğunlukla ölümlü sonuçlanan kompleks bir hastalıktır. Virusun vücuda girdikten sonra mutasyona uğradığı belirtilmesine rağmen, mutasyonun oluşum mekanizması tam olarak açıklanamamaktadır. Ayrıca kedilerde genetik yatkınlık olduğu ifade edilse de bu yatkınlığın kaynağı da tam olarak belirlenmemektedir. Feline İnfeksiyöz Peritonitis enfeksiyonunun tanısında farklı tanı yöntemleri olmasına rağmen hastalık %100 olarak teşhis edilememekle birlikte tanıda PCR yöntemi başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Tedavi veya ötenazi ise hastalığın kesin tanısı konulmadan önerilmemektedir. Tedavi noktasında denenen birçok çalışma olsa da günümüzde hastalığın kesin tedavisi olarak gösterilen, rutinde kullanılan ruhsatlandırılmış bir ilaç yoktur. Son yapılan çalışmalarda GS-441524 üzerine odaklanılmakta ve çalışma sonuçlarına göre bu etken maddenin umut vadeci olduğu öne sürülmektedir. Ancak, bu ürünle ilgili kontrollü ve daha kapsamlı çalışmaların artırılması ile ürünün tedavi üzerindeki etkinliğinin doğrulanması da gerekmektedir. Nihai olarak şu an için bu çalışmalara ilaveten hastalıktan korunmaya da odaklanılmalıdır. Bu bağlamda hastalığın gelişimi ile ilgili öne sürülen predispoze faktörleri minimize etmeyi hedef alan kontrol programları oluşturularak, virusla mücadelede başarılı sonuçlar elde edilebileceği düşünülmektedir.

### 4.KAYNAKÇA

1. Addie, D. D. (2019). Feline infectious peritonitis: answers to frequently asked questions concerning FIP and coronavirus. *Veterinary Nursing Journal*, 34(8), 201-206.

2. Addie, D. D., Le Poder, S., Burr, P., Decaro, N., Graham, E., Hofmann-Lehmann, R., ... & Meli, M. L. (2015). Utility of feline coronavirus antibody tests. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 17(2), 152-162.
3. Addie, D., Belák, S., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Frymus, T., Gruffydd-Jones, T., ... & Horzinek, M. C. (2009). Feline infectious peritonitis. ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine & Surgery*, 11(7), 594-604.
4. Akın H. (2013). Türkiye’de evcil kedilerde feline coronavirus enfeksiyonlarının epidemiyolojisi ve moleküler karakterizasyonu. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Doktora Tezi, 2-28.
5. Aytuğ, N. (2009). Kedi enfeksiyonları 1: Zorlayan tanı; kedilerin enfeksiyöz peritonitisi.
6. Bas, T., Sevinç, M., & Ok, M. (2020). Kedilerin Koronavirüs enfeksiyonu. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences, (Covid-19 Special Issue)*, 106-117.
7. Berg, A. L., Ekman, K., Belak, S., & Berg, M. (2005). Cellular composition and interferon- $\gamma$  expression of the local inflammatory response in feline infectious peritonitis (FIP). *Veterinary Microbiology*, 111(1-2), 15-23.
8. Brown, M. A., Troyer, J. L., Pecon-Slattery, J., Roelke, M. E., & O’Brien, S. J. (2009). Genetics and pathogenesis of feline infectious peritonitis virus. *Emerging infectious diseases*, 15(9), 1445.
9. Brownlie J, Whittaker G. (2017). Coronaviridae. In; Fenner’s veterinary virology, MacLachlan NJ and Dubovi EJ (Ed), 5thed., 435-461, Elsevier Inc, United Kingdom.
10. Cenedella, R. J. (2009). Cholesterol synthesis inhibitor U18666A and the role of sterol metabolism and trafficking in numerous pathophysiological processes. *Lipids*, 44(6), 477-487.
11. Chang, C. Y., Kuo, S. H., Peng, Y. W., Lin, C. H., Lee, Y. K., Chen, Y. C., & Chang, H. W. (2017). Diagnosis and treatments of feline infectious peritonitis: an update. *Taiwan Veterinary Journal*, 43(01), 29-37.
12. Chang, H. W., Egberink, H. F., Halpin, R., Spiro, D. J., & Rottier, P. J. (2012). Spike protein fusion peptide and feline coronavirus virulence. *Emerging infectious diseases*, 18(7), 1089.
13. Diaz, J. V., & Poma, R. (2009). Diagnosis and clinical signs of feline infectious peritonitis in the central nervous system. *The Canadian Veterinary Journal*, 50(10), 1091.
14. Drechsler, Y., Alcaraz, A., Bossong, F. J., Collisson, E. W., & Diniz, P. P. V. (2011). Feline coronavirus in multicat environments. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 41(6), 1133-1169.
15. Fehr, D., Holznagel, E., Bolla, S., Hauser, B., Herrewegh, A. A., Horzinek, M. C., & Lutz, H. (1997). Placebo-controlled evaluation of a modified live virus vaccine against feline infectious peritonitis: safety and efficacy under field conditions. *Vaccine*, 15(10), 1101-1109.
16. Felten, S., & Hartmann, K. (2019). Diagnosis of feline infectious peritonitis: a review of the current literature. *Viruses*, 11(11), 1068.
17. Harpold, L. M., Legendre, A. M., Kennedy, M. A., Plummer, P. J., Millsaps, K., & Rohrbach, B. (1999). Fecal shedding of feline coronavirus in adult cats and kittens in an Abyssinian cattery. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 215(7), 948-951.
18. Hartmann, K. (2005). Feline infectious peritonitis. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 35(1), 39-79.
19. Herrewegh, A. A., Smeenk, I., Horzinek, M. C., Rottier, P. J., & De Groot, R. J. (1998). Feline coronavirus type II strains 79-1683 and 79-1146 originate from a double recombination between feline coronavirus type I and canine coronavirus. *Journal of virology*, 72(5), 4508-4514.
20. Holzworth, J. (1963). Some important disorders of cats. *The Cornell Veterinarian*, 53, 157-160.

21. Hsieh, L. E., Lin, C. N., Su, B. L., Jan, T. R., Chen, C. M., Wang, C. H., ... & Chueh, L. L. (2010). Synergistic antiviral effect of *Galanthus nivalis* agglutinin and nelfinavir against feline coronavirus. *Antiviral research*, 88(1), 25-30.
22. Kennedy, M. A. (2020). Feline infectious Peritonitis: Update on pathogenesis, diagnostics, and treatment. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 50(5), 1001-1011.
23. Kipar, A., & Meli, M. L. (2014). Feline infectious peritonitis: still an enigma?. *Veterinary Pathology*, 51(2), 505-526.
24. Kipar, A., Meli, M. L., Failing, K., Euler, T., Gomes-Keller, M. A., Schwartz, D., ... & Reinacher, M. (2006). Natural feline coronavirus infection: differences in cytokine patterns in association with the outcome of infection. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 112(3-4), 141-155.
25. Kuruçay, H. N., & Gümüşova, S. Feline İnfeksiyöz Peritonitise Genel Bakış ve Antiviral Yaklaşımlar. *Turkish Veterinary Journal*, 3(1), 4-12.
26. Legendre, A. M., & Bartges, J. W. (2009). Effect of Polyprenyl Immunostimulant on the survival times of three cats with the dry form of feline infectious peritonitis. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11(8), 624-626.
27. Legendre, A. M., Kuritz, T., Galyon, G., Baylor, V. M., & Heidel, R. E. (2017). Polyprenyl immunostimulant treatment of cats with presumptive non-effusive feline infectious peritonitis in a field study. *Frontiers in Veterinary Science*, 4, 7.
28. McDonagh, P., Sheehy, P. A., & Norris, J. M. (2014). Identification and characterisation of small molecule inhibitors of feline coronavirus replication. *Veterinary microbiology*, 174(3-4), 438-447.
29. Mochizuki, M., Mitsutake, Y., Miyanochara, Y., Higashihara, T., Shimizu, T., & Hohdatsu, T. (1997). Antigenic and plaque variations of serotype II feline infectious peritonitis coronaviruses. *Journal of veterinary medical science*, 59(4), 253-258.
30. Myrrha, L. W., Silva, F. M. F., Peternelli, E. F. D. O., Junior, A. S., Resende, M., & Almeida, M. R. D. (2011). The paradox of feline coronavirus pathogenesis: a review. *Advances in Virology*, 2011.
31. Pedersen, N. C. (2009). A review of feline infectious peritonitis virus infection: 1963–2008. *Journal of feline medicine and surgery*, 11(4), 225-258.
32. Pedersen, N. C. (2014). An update on feline infectious peritonitis: virology and immunopathogenesis. *The Veterinary Journal*, 201(2), 123-132.
33. Pedersen, N. C. (2019). Fifty years' fascination with FIP culminates in a promising new antiviral. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 21(4), 269-270.
34. Pedersen, N. C., Black, J. W., Boyle, J. F., Evermann, J. F., McKeirnan, A. J., & Ott, R. L. (1984). Pathogenic differences between various feline coronavirus isolates. In *Molecular biology and pathogenesis of coronaviruses* (pp. 365-380). Springer, Boston, MA.
35. Pedersen, N. C., Kim, Y., Liu, H., Galasiti Kankanamalage, A. C., Eckstrand, C., Groutas, W. C., ... & Chang, K. O. (2018). Efficacy of a 3C-like protease inhibitor in treating various forms of acquired feline infectious peritonitis. *Journal of feline medicine and surgery*, 20(4), 378-392.
36. Pedersen, N. C., Liu, H., Dodd, K. A., & Pesavento, P. A. (2009). Significance of coronavirus mutants in feces and diseased tissues of cats suffering from feline infectious peritonitis. *Viruses*, 1(2), 166-184.
37. Pedersen, N. C., Liu, H., Durden, M., & Lyons, L. A. (2016). Natural resistance to experimental feline infectious peritonitis virus infection is decreased rather than increased by positive genetic selection. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 171, 17-20.

38. Pedersen, N. C., Perron, M., Bannasch, M., Montgomery, E., Murakami, E., Liepnieks, M., & Liu, H. (2019). Efficacy and safety of the nucleoside analog GS-441524 for treatment of cats with naturally occurring feline infectious peritonitis. *Journal of feline medicine and surgery*, 21(4), 271-281.
39. Pesteanu-Somogyi, L. D., Radzai, C., & Pressler, B. M. (2006). Prevalence of feline infectious peritonitis in specific cat breeds. *Journal of feline medicine and surgery*, 8(1), 1-5.
40. Pfefferle, S., Schöpf, J., Kögl, M., Friedel, C. C., Müller, M. A., Carbajo-Lozoya, J., ... & von Brunn, A. (2011). The SARS-coronavirus-host interactome: identification of cyclophilins as target for pan-coronavirus inhibitors. *PLoS pathogens*, 7(10), e1002331.
41. Richards, J. R., Elston, T. H., Ford, R. B., Gaskell, R. M., Hartmann, K., Hurley, K. F., ... & Sparkes, A. H. (2006). The 2006 American association of feline practitioners feline vaccine advisory panel report. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 229(9), 1405-1441.
42. Riemer, F., Kuehner, K. A., Ritz, S., Sauter-Louis, C., & Hartmann, K. (2016). Clinical and laboratory features of cats with feline infectious peritonitis—a retrospective study of 231 confirmed cases (2000–2010). *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 18(4), 348-356.
43. Simons, F. A., Vennema, H., Rofina, J. E., Pol, J. M., Horzinek, M. C., Rottier, P. J., & Egberink, H. F. (2005). A mRNA PCR for the diagnosis of feline infectious peritonitis. *Journal of virological methods*, 124(1-2), 111-116.
44. Takano, T., Akiyama, M., Doki, T., & Hohdatsu, T. (2019). Antiviral activity of itraconazole against type I feline coronavirus infection. *Veterinary research*, 50(1), 1-6.
45. Takano, T., Endoh, M., Fukatsu, H., Sakurada, H., Doki, T., & Hohdatsu, T. (2017). The cholesterol transport inhibitor U18666A inhibits type I feline coronavirus infection. *Antiviral research*, 145, 96-102.
46. Takano, T., Katoh, Y., Doki, T., & Hohdatsu, T. (2013). Effect of chloroquine on feline infectious peritonitis virus infection in vitro and in vivo. *Antiviral research*, 99(2), 100-107.
47. Takano, T., Satomi, Y., Oyama, Y., Doki, T., & Hohdatsu, T. (2016). Differential effect of cholesterol on type I and II feline coronavirus infection. *Archives of virology*, 161(1), 125-133.
48. Tanaka, Y., Sato, Y., & Sasaki, T. (2013). Suppression of coronavirus replication by cyclophilin inhibitors. *Viruses*, 5(5), 1250-1260.
49. Tasker, S. (2018). Diagnosis of feline infectious peritonitis: Update on evidence supporting available tests. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 20(3), 228-243.
50. Tekes, G., & Thiel, H. J. (2016). Feline coronaviruses: pathogenesis of feline infectious peritonitis. *Advances in virus research*, 96, 193-218.
51. Uslu, M. (2022). Kedilerde Antiviral Tedavi. 5. International Icontech Symposium on Innovative Surveys in Positive Sciences. 5-6 Şubat, Urfa, Türkiye.
52. Ün, H. (2021). Coronaviridae ve Tobaniviridae, Yeşilbağ, K., Veteriner Viroloji, 1.baskı, Medipres, Malatya, 281-286.
53. Yalçın, E., & Keser, G. Ö. (2016). Feline İnfeksiyöz Peritonitis'e Güncel Yaklaşım. *Journal of the Faculty of Veterinary Medicine/Veteriner Fakültesi Dergisi*, 35.
54. Thayer, V., Gogolski, S., Felten, S., Hartmann, K., Kennedy, M., & Olah, G. A. (2022). 2022 AAEP/EveryCat Feline Infectious Peritonitis Diagnosis Guidelines. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 24(9), 905-933.
55. Emmler, L., Felten, S., Matiasek, K., Balzer, H. J., Pantchev, N., Leutenegger, C., & Hartmann, K. (2020). Feline coronavirus with and without spike gene mutations detected by real-time RT-PCRs in cats with feline infectious peritonitis. *Journal of feline medicine and surgery*, 22(8), 791-799.

**EVALUATING THE PRODUCTION EFFICIENCY OF OFFSHORE PURSE SEINE  
FISHING IN CA MAU PROVINCE, VIETNAM**

*Dang Hoang Xuan Huy, Nguyen Trong Luong, Nguyen Thi My Dung*

*Faculty of Economics - Nha Trang University, Vietnam*

*Institute for Marine Science & Fishing Technology - Nha Trang University, Vietnam.*

*Fisheries Sub-Department of Ca Mau Province, Vietnam.*

**ABSTRACT**

This study evaluates the production effectiveness of offshore purse seine fishing in Ca Mau province, Vietnam. Descriptive statistical methods were used in the study. The results showed that: (i) with regard to exploitation efficiency, the average catch of the group of boats with Lmax from 15m to less than 24m was 277.121 tons/boat/year, the average catch of the group of boats with Lmax from 24m and above was 315.280 tons/boat/year, and catch quantity tended to increase with boat size and capacity; (ii) in terms of economic efficiency, the average revenue of the group of boats with Lmax from 15m to less than 24m was 5.567 billion Vietnamese dong/boat/year, the average profit was 1.781 billion Vietnamese dong/year/boat, the group of boats with Lmax from 24m and above had an average revenue of 6.334 billion Vietnamese dong/boat/year and an average profit of 1.976 billion Vietnamese dong/year/boat; (iii) in terms of social efficiency, nearly 7,900 jobs were created, with the average income of net fishing labor for captains and chief engineers at 25 million Vietnamese dong/month and crew members at 8.2 million Vietnamese dong/month, which was higher than that of laborers in companies in the area; (iv) in terms of efficiency in protecting fishery resources, net fishing is a selective and low-impact method, which has little effect on the environment and resources. Therefore, the study proposes some policy implications to enhance the efficiency of offshore fishing net production and exploitation in Ca Mau province, Vietnam, including solutions to improve the quality of human resources through training, conservation, and marketing of catch products.

**Keywords:** production efficiency, Ca Mau, Vietnam

**1. INTRODUCTION**

**1.1. The importance of the topic**

Vietnam is located in Southeast Asia. Ca Mau province is situated at the southernmost point of Vietnam and is the only province with three sides facing the sea, with a coastline of 254 km (excluding the coastlines of islands within the province), accounting for 7.8% of the country's coastline length. Of this, the eastern coastline is 107 km long and the western coastline is 147 km long. The province's geographical coordinates are 8o30'-9o34' north latitude and 104o32'-105o24' east longitude. Ca Mau province is adjacent to Kien Giang province to the north, Bac Lieu province to the northeast, the East and Southeast Seas to the east and southeast, and the Gulf of Thailand to the west. The coastal area of Ca Mau province includes three island clusters: Hon Khoai (comprising five islands, including Hon Khoai, Hon Sao, Hon Doi Moi, Hon Tuong, and Hon Da Le), Hon Chuoi (comprising two islands, including Hon Chuoi and Hon Buong), and Hon Da Bac (comprising three islands, including Hon Da Bac, Hon Ong Ngo, and Hon Troi). These conditions are favorable for anchoring ships, avoiding storms, and developing the maritime economy.

The fishing grounds for exploiting aquatic resources in Ca Mau province cover an area of over 71,000 km<sup>2</sup> and are considered one of the country's important fishing grounds. The coastal area of Ca Mau province is evaluated as having a large stock of diverse seafood species with high economic value, such as shrimp, squid, oyster, red snapper, barramundi, tuna, mackerel, etc. With the advantage of mudflats, the coastal area of Ca Mau province is home to many benthic animals, which are a source of food for fish and shrimp growth and development [40].

In recent years, the seafood industry has always been a concern and has become one of the key economic sectors of the province, providing employment for tens of thousands of workers in coastal areas, promoting the development of other business and accompanying logistics services, and making a significant contribution to the province's socio-economic development.

Ca Mau province is one of the districts with a long coastline and many river mouths, such as Da Bac, Ba Tinh, My Binh, and Ong Doc. In particular, the Ong Doc river mouth is wide, deep, less affected by storms, convenient for anchoring and sheltering boats, carrying out fishing logistics services, and serving as the entry and exit point for many fishing boats within and outside the province. This provides favorable conditions for the development of marine fisheries.

As of December 2021, the entire province has 4,603 fishing vessels, of which 21.60% have a length of less than 12 meters, 31.72% have a length of 12 meters to less than 15 meters, and 46.68% have a length of 15 meters or more. Fishing vessels with a length of 15 meters or more mainly engage in trawling, seining, gillnetting, squid fishing, and logistics services. However, most vessels with a length of 24 meters or more only engage in gillnetting and seining. [5]

The purse seine (also known as the encircling net, drawstring net, or leadline net) is a specialized fishing technique for exploiting aquatic resources in the surface and middle layers using the methods of daytime purse seine, nighttime purse seine with lights, and light purse seine with brushing. The purse seine is a net fishing tool that is widely used worldwide, based on the principle of water filtration to catch fish. The net is constructed in the form of a net wall that is released from a boat, encircling a water area and then pulled onto the boat to harvest the fish. The main target of this technique is surface-dwelling fish such as tuna, mackerel, sardines, anchovies, and shrimp, which are economically valuable. Therefore, purse seining is one of the most economically efficient offshore fishing methods in Vietnam. In recent years, purse seining has developed strongly with many improvements and has been effective in harvesting, with hopes of becoming a key profession for fishermen in the future. However, this fishing technique requires high initial investment and also has many risks, such as wide fishing grounds, offshore conditions, harsh weather conditions, unstable productivity, and high costs for fishing trips.

There are 163 offshore purse seine fishing vessels in Ca Mau province. According to the province's structure planning for aquaculture exploitation, the purse seine fishing vessels with a length of 15m or more will gradually shift to environmentally friendly professions, such as purse seining. It also encourages fishermen to upgrade and improve vessels with a length of less than 15m to perform other fishing techniques such as trolling, drawstring purse seine, offshore trawling, and aquaculture services. Step by step, the tail purse seine fishing technique is being introduced to increase efficiency. By 2025, the number of purse seine fishing vessels is expected to increase to 250, and by 2035, it is expected to reach 280 vessels. However, there have not been many scientific studies evaluating the production efficiency of this profession. Therefore, the research topic "Assessing the production efficiency of offshore purse seine fishing in Ca Mau province" is essential. Based on the evaluation of the production efficiency of the research vessel team, it can provide a scientific basis for state management agencies to advise and support fishermen in choosing suitable models, vessel size, fishing gear size, vessel engine power, and equipment to improve harvesting efficiency and provide appropriate investment development direction.

## **2. OBJECTIVES**

### **2.1. General objective**

The objective of the study is to evaluate the production efficiency of gillnet fishing vessels in Ca Mau province and propose solutions to improve the production efficiency of the fleet.

### **2.2. Specific objectives**

Evaluate the current situation of gillnet fishing vessels in Ca Mau province;

Evaluate the production efficiency of gillnet fishing vessels in Ca Mau province;

Based on the analysis and evaluation, propose solutions to improve the production efficiency of gillnet fishing vessels in Ca Mau province.

### 3. SUBJECT AND SCOPE OF THE STUDY

#### 3.1. Subject

The subject of the study is the production efficiency of offshore gillnet fishing in Ca Mau province.

#### 3.2. Scope

The study surveyed a total of 75 gillnet fishing vessels with a length of  $\geq 15$ m in Ca Mau province from January 2021 to December 2021 (During the social distancing period due to the Covid-19 epidemic, fishing vessels were still allowed to operate).

### 4. RESEARCH METHODOLOGY

#### 4.1. Data collection methods

##### 4.1.1. Survey and data collection methods

##### 4.1.1.1. Determining the survey sample size

The subject of investigation and survey is a group of offshore fishing vessels using gillnets in Ca Mau province.

As of December 2021, there were 149 gillnet vessels with a length of 15m or more, of which 123 vessels were between 15m and less than 24m in size, and 26 vessels were 24m or larger [5].

The number of survey samples (n) includes 55 gillnet vessels with a size of 15m to less than 24m and 20 vessels with a size of 24m or more determined in the population (N) using Yamane's formula (1967) [34]: (2-1)

Where: N: population size; n: number of vessels to be surveyed; e: margin of error. According to FAO guidelines in the fisheries sector, a confidence level of 90% to 95% is recommended to ensure safety and reflect the entire fishery population. Therefore, a confidence level of 90% and  $e = 0.1$  are chosen in this study.

Thus, the number of samples needed for the survey is 75 gillnet vessels. The distribution of survey samples is shown in Table 1.

**Table 1.** Distribution of sampled vessels

Lmax Number of vessels	Sample	Size	Percentage of sample size to population (%)
$15m \leq L_{max} < 24m$	123	55	44.71
$L_{max} \geq 24m$	26	20	76.96

##### 4.1.1.2. Secondary data collection

Compilation and analysis of information and research results published, reports, and documents on fisheries management. Collecting data from state management agencies on fisheries exploitation such as the Department of Agriculture and Rural Development of Ca Mau, Ca Mau Fisheries Sub-department, Department of Agriculture and Rural Development of Ca Mau Province, Vietnam, and People's Committees of communes with purse seine fishing in the district. Based on that, choose and inherit a research method appropriate to the objectives of the topic.

##### 4.1.1.3. Primary data collection

Primary information is collected from shipowners and captains of selected vessels in Ca Mau.

Primary data was collected in 2021 through surveys and interviews with shipowners and captains with necessary information collected according to the designed form. Directly survey and interview shipowners and captains about:

The situation of the group of ships: Characteristics of ships (ship hull material, size, ship engine, fishing equipment, maritime equipment), labor on the ship, output, composition of output, fishing ground, fishing season, crew income.

Production efficiency of ships: number of voyages, number of operating days, output, revenue, costs, profits, owner's income, crew income.

Survey content (according to the survey form shown in the annex).

#### 4.1.1.4. Data analysis method

Data is entered into a computer, using Excel software, statistical functions, and ANOVA analysis methods to analyze and calculate the necessary values. Based on the evaluated values, analyze the exploitation efficiency and economic efficiency of offshore purse seine fishing.

### 4.2. Evaluation indicators for mining efficiency

#### 4.2.1. Indicators of mining efficiency

##### 4.2.1.1. Production output

The production output of each vessel is collected through direct surveys from the vessel owner for each trip, known as the voyage production output ( $C_j$ ) [14].

##### 4.2.1.2. Catch per unit effort (CPUE)

Based on the statistical average mining output of purse seine vessels in a year and the number of days the vessel fished in the year (excluding travel days), the CPUE of each vessel can be determined [32].

The CPUE of vessel  $i$  in a year is calculated by the following formula:

$CPUE_i = \frac{C_i}{d_i}$  (tons/day) ( $d_i$ - the number of days the vessel operated in the year;  $C_i$ - the mining output of vessel  $i$  in the year) (2-5)

The average mining efficiency of the fleet in a year is calculated by the following formula:

$$\overline{CPUE} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n CPUE_i \quad (2-6) \text{ (tons/day)}$$

Where:  $\overline{CPUE}$  is the average mining efficiency;

$n$  is the number of vessels surveyed;

$CPUE_i$  is the mining efficiency of the  $i$ -th vessel (sample  $i$ ).

#### 4.2.1.3. Evaluation criteria for economic efficiency and determination method

##### - Economic efficiency indicators:

The economic efficiency of offshore fisheries depends on the revenue generated and the costs incurred. The revenue is calculated based on the total value of all products caught during a fishing trip, which is referred to as the "fishing trip revenue" ( $DT_{cbi}$ ). The formula for calculating  $DT_{cbi}$  is as follows:

$$TR_{Voyage} = \sum_{i=1}^n Q_i \times P_i \quad \text{(million Vietnamese dong)} \quad (2-7)$$

Where:

$Q_i$ : Quantity of product  $i$

$P_i$ : Selling price of product  $i$

$i = 1 \div n$ : Number of product types

The fishing exploitation revenue ( $TR_{catch}$ ) is calculated as the sum of all fishing trip revenues ( $TR_{Voyage}$ ) during the year. The unit of measurement is million Vietnamese dong.

##### - Cost

The cost of offshore fisheries depends largely on the fishing resources available and weather conditions at sea. Therefore, the amount of catch per fishing trip may vary significantly between trips with favorable weather conditions and those encountering bad weather such as storms and tropical depressions. However, the costs of a fishing trip, such as labor costs, supplies, fuel, and ice, are relatively consistent, and the number of fishing trips per month in a year is stable. Therefore, the author suggests



using a cost classification method that depends on each fishing trip rather than one based on production volume. This way, some fixed costs, such as insurance, vessel maintenance, and miscellaneous expenses (registration, licensing), can be allocated, while some variable costs, such as fuel, lubricant, supplies, ice, and fishing gear repair, can be separated for each fishing trip.

The fixed costs do not include vessel depreciation, as the research indicates that these purse seine vessels were built at different times, with different levels of investment from vessel owners, and have different residual values. Furthermore, there are currently no regulations regarding the service life of fishing vessels, and many well-maintained vessels can still be used for many years. Therefore, calculating vessel depreciation is difficult and may not be feasible.

Fixed costs (FC) are operating costs that do not vary with the fishing season. These costs include insurance (Ins), engine and vessel maintenance (VM), and miscellaneous expenses (Other), such as registration, licensing, port entry/exit fees (the survey vessel has a stable number of fishing trips per year, so the author includes port entry/exit fees as miscellaneous expenses). The formula for calculating FC is as follows:

$$FC = \text{Ins} + \text{VM} + \text{Other} \text{ (million Vietnamese dong) (2-8)}$$

Variable costs (VR) include fuel costs (fuC), lubricant costs (LuC), fishing gear repair costs (FigearC), food costs (FoodC), and water and ice costs (WIC). These costs are allocated to each fishing trip based on the actual consumption during the trip. The formula for calculating CPBD is as follows:

$$VR = \text{fuC} + \text{LuC} + \text{FigearC} + \text{FoodC} + \text{WIC} \text{ (million Vietnamese dong) (2-9)}$$

Labor costs (LC): is the amount of money the shipowner must pay to the workers working on the ship during the voyage. The salary of the seafarers will be divided between the shipowner according to a ratio calculated as follows: the revenue of the voyage minus the voyage expenses remaining will be divided between the shipowner and the workers on the ship at a rate of 60% for the shipowner and 40% for the workers. This 40% will be evenly distributed among all workers on the ship (including the shipowner if they work on the ship). The captain and chief engineer will receive an additional 20% share of the shipowner's 60% portion.

$$LC = 40\% * (\text{TRVoyage} - \text{VC}) \text{ (in million Vietnamese dong) (2-10)}$$

Production costs (PrC): is the total cost of organizing production during a voyage, including variable costs and labor costs.

$$\text{PrC} = \text{VC} + \text{LC} \text{ (in million Vietnamese dong) (2-11)}$$

#### **- Profit**

Profit is the value that the ship owner obtains from the voyage after deducting all production costs and labor wages, calculated by the following formula:

$$P = \text{TR} - \text{TFC} - \text{TVC} \text{ (in million Vietnamese dong) (2-12)}$$

Low or negative profits indicate that the source of profit is being wasted economically and the intensity of exploitation has exceeded the economic and biological thresholds. Or, low profits may be the result of a combination of low fish prices and high operating costs. In other words, the fishing industry is being overinvested due to ineffective management of fishing capacity [17].

If profits are positive and high, then the fishing industry tends to be efficiently managed, and this superior positive profit may attract more fishermen to participate in fishing activities. Therefore, if management agencies do not have effective management measures, the fishing industry may return to a state of negative total profit [17].

#### **- Profitability ratio based on revenue (PRR)**

PRR is the ratio of voyage profit to voyage revenue. This indicator reflects the production performance of the fishing fleet, showing how much profit is generated for every unit of revenue. The higher the profitability ratio based on revenue, the higher the production efficiency, and vice versa. The profitability ratio based on revenue is calculated by the following formula:

PRR = Profit/Voyage revenue (times) (2-13)

Where:

PRR is the profitability ratio based on revenue.

Profit is the profit.

Voyage revenue is the revenue from fishing operations.

**- Profitability ratio based on cost (PRC)**

PRC is the ratio of voyage profit to voyage cost. This indicator reflects how much profit is generated for every unit of cost. The higher the profitability ratio based on cost, the lower the cost can still generate a high profit. The profitability ratio based on cost is calculated by the following formula:

PRC = Profit/Cost (times) (2-14)

Where:

PRC is the profitability ratio based on cost.

Profit is the profit.

Cost includes fixed costs and variable costs.

**4.2.2. Effectiveness in protecting resources**

**4.2.2.1. Proportion of individuals by length group in each species**

Randomly select 3 samples [2] from logistics service vessels (unclassified catch samples), use a ruler with a 1mm scale to measure the length of the object. For fish species with forked tails, measure the length from the mouth to the forked tail. For fish species without forked tails, measure the length from the mouth to the end of the tail.

The number of individuals of each species/group is determined based on the size of that species on each vessel.

**4.2.2.2. Evaluating the proportion of exploitation products violating regulations**

Construct a table of indicators to assess the degree of violation of the size of aquatic species.

**Table 2.** Index for assessing the degree of violation of size regulations for aquatic species

Order	Percentage ratio/comparison (%)	Evaluation level"
1	≤ 15	No harm caused.
2	16 ÷ 30	Violation of regulations, low level
3	31 ÷ 50	High level violation of regulations.
4	51 ÷ 85	Violation of regulations, very high level.
5	86 ÷ 100	Violation of regulations, very serious level.

Comparing the results of the main product investigation with the regulations in Circular No. 62/2008/TT-BNN dated May 20, 2008, of the Ministry of Agriculture and Rural Development [2]. Specifically, the allowed ratio of mixing with smaller-sized objects not exceeding 15% of the exploited aquatic product volume.

**4.2.3. Social effectiveness**

The criterion for assessing social effectiveness is job creation for laborers and income for fishermen.

**5. RESULTS AND DISCUSSION**

**5.1. Evaluation of research team effectiveness**

**5.1.1. Efficiency of operation**

**5.1.1.1. Catch volume**

The results of the investigation and statistical analysis of the catch volume of the offshore purse seine fishing fleet in Ca Mau province are presented in Table 3.

**Table 3.** Catch volume of the offshore purse seine fishing fleet in Ca Mau province

Length group	Number of survey samples	Medium output	production output (tons/year)			ANOVA
			Max	Min	Medium	
15m≤Lmax<24m	55	281	350.46	155.92	277.12	P<0.05
Lmax≥24m	20	442	396.52	253.44	315.28	

The average catch of the offshore fishing fleet in Ca Mau province is presented in Table 3, indicating that the average catch for the group of vessels with 15m≤Lmax<24m is 277.12 tons/vessel/year, and for the group with Lmax≥24m is 315.28 tons/vessel/year. Table 3 shows a difference in catch between the two groups of vessels, with Lmax≥24m vessels having a higher average catch of 315.28 tons/vessel/year (ranging from 252.44 to 396.52 tons/vessel/year) (P<0.05).

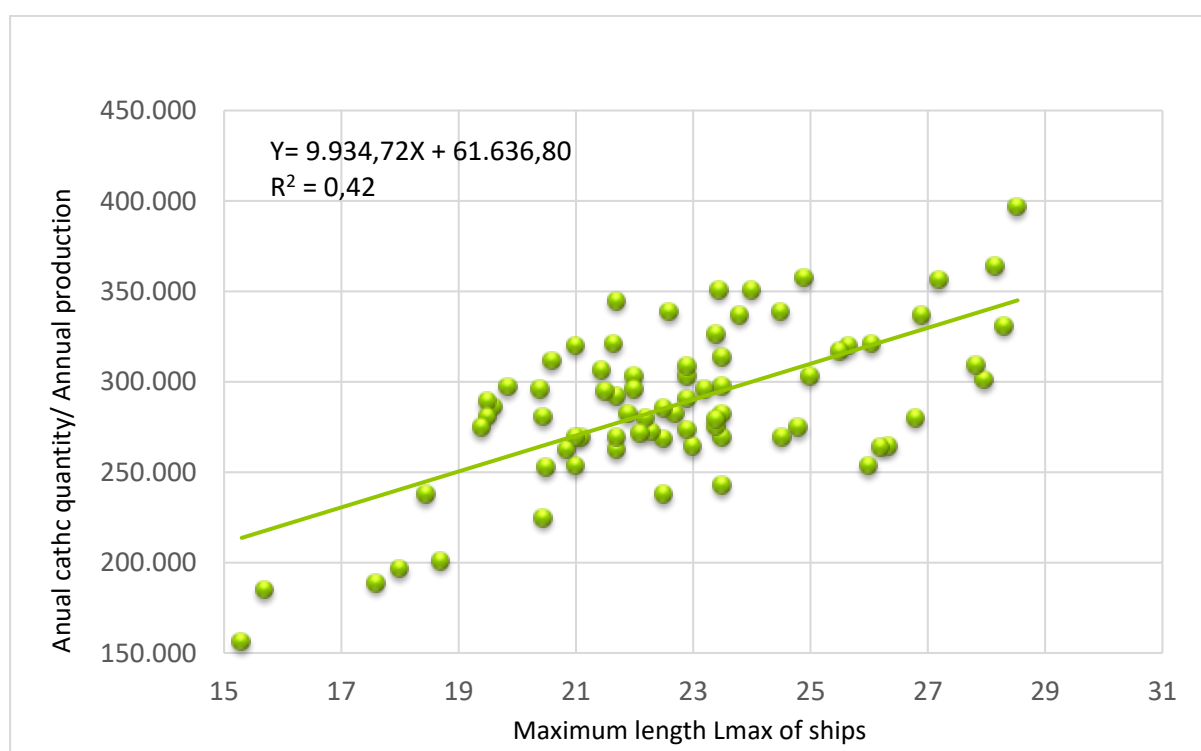


Figure 1. Correlation between vessel length and catch volume

The trend of increasing catch volume with vessel size is shown in Figure 1. There is a positive correlation between vessel length and catch volume. Vessels with larger size and engine capacity are able to carry longer nets and have faster towing and releasing speed, which helps to limit the escape of fish and lead to higher catch volume. In addition, larger vessels can carry more fuel, supplies, and ice for longer trips, which also increases catch volume. However, the catch volume also depends on other factors such as the number of fishing days, the number of nets per trip, whether the vessel is equipped with more modern fishing gear, and the experience of the captain and crew.

The average catch volume of longline fishing vessels fluctuates significantly throughout the year and is not evenly distributed among vessels in Vietnam. According to a study by Tran Hoang Tuan (2021), the average catch volume of longline fishing vessels is around 228-230 tons per year, but the average catch volume fluctuates significantly from 67-369 tons per year. This shows that offshore fishing can bring great profits to fishermen, but it is not sustainable because it depends on many factors such as weather, fishing grounds, seasons, equipment sensitivity, fishing gear, and crew experience.

Based on interviews with vessel owners, the catch volume of the longline fishing vessels in 2021

decreased compared to previous years due to the decreasing fish stocks while fishing efforts remained high. In addition, there is currently a shortage of fishing labor due to the nature of the labor-intensive and dangerous profession with low income. Many workers have switched to other jobs or migrated to other provinces or overseas for work. As a result, vessel owners have to hire inexperienced labor, which has a significant impact on catch volume.

### 5.1.1.2. Fishing productivity

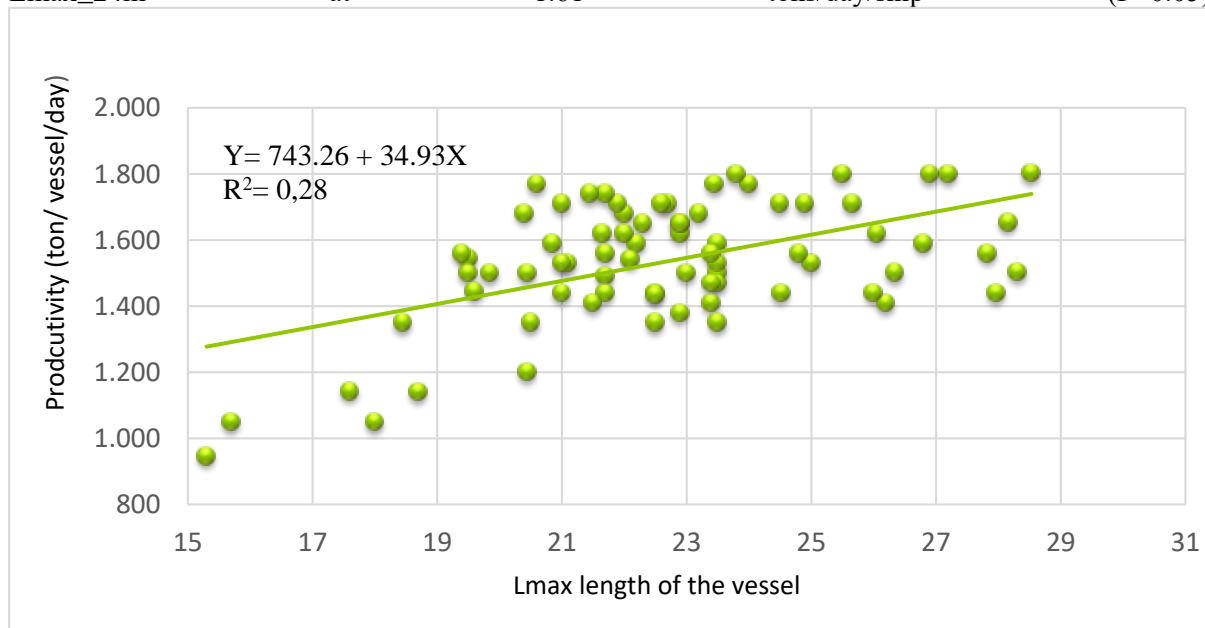
In 2021, the longline fishing vessels conducted numerous fishing trips, and the fishing productivity of the fleet is shown in Table 4.

**Table 4.** Statistics of average fishing productivity of the longline fishing fleet

Unit: tons/vessel/day

Length group	Number of survey samples	Medium output	production output (tons/year)			ANOVA
			Max	Min	Medium	
15m≤Lmax<24m	55	281	1.80	0.94	1.50	P<0.05
Lmax≥24m	20	442	1.80	1.41	1.61	

Table 4 shows that the average exploitation productivity of the group of ships with 15m≤Lmax<24m is 1.50 tons/day/ship, which is lower than the average exploitation productivity of the group of ships with Lmax≥24m at 1.61 tons/day/ship (P<0.05).



**Figure 2.** The correlation between vessel length and fishing productivity

Based on the graph, we can observe a positive correlation between vessel length and fishing productivity. Fishing productivity tends to increase with vessel length. However, the regression model only explains 28% of the variation in fishing productivity compared to vessel length, while the remaining 72% is unexplained. This suggests that the increase in fishing productivity depends on the large size of the vessel, but not strongly, and also depends on factors such as the number of fishing days, the catch volume of the vessel, the experience of the crew, and the equipment used for fishing.

The fishing productivity of gillnet fishing vessels is relatively higher than that of other fishing vessels. According to the research results of Bui Van Tung in 2014, when comparing the fishing productivity of gillnet fishing vessels with other fishing groups such as trawl, seine, and hook and line fishing, gillnet fishing has the highest productivity among these groups. This is believed to be due to the fishing target of gillnet fishing being schools of fish with large reserves, and the vessels being equipped with long nets

and large engine power to support efficient fishing. In addition, vessels are equipped with many fishing equipment that also contributes to increasing fishing productivity.

Most gillnet fishing vessels operate year-round (11 trips/year/vessel), only taking a one-month break for the Lunar New Year, a typical fishing trip lasts 20 days, and the number of fishing days ranges from 16-18 days. On one hand, the fishing grounds of the gillnet fishing group in Ca Mau province have relatively favorable weather conditions, on the other hand, the vessel owners said that they still have to go fishing even if there is low or no profit in order to maintain their fishing friendships.

### 5.1.1.3. Labor productivity

Offshore gillnet fishing in Ca Mau province has a number of workers on board ranging from 8 to 20 people, with an average of 14 people in the group of vessels with  $15m \leq L_{max} < 24m$  and an average of 17 people in the group of vessels with  $L_{max} \geq 24m$ . Labor productivity reflects the production efficiency of workers on board during fishing activities.

**Table 5:** The labor productivity of the offshore gillnet fishing fleet in Ca Mau province

Order number	Length group	Number of survey samples	Average number of employees	Labor productivity (ton/person/year)			ANOVA
				Min	Max	Medium	
1	$15m \leq L_{max} < 24m$	55	14	15.17	23.74	18.87	P>0.05
2	$L_{max} \geq 24m$	20	17	10.69	24.03	19.00	

Labor productivity in the group of boats with  $15m \leq L_{max} < 24m$  ranges from 10.69 to 24.03 tons/person/year, with an average of 19 tons/person/year. In the group of boats with  $L_{max} \geq 24m$ , it ranges from 15.17 to 23.74 tons/person/year, with an average of 18.87 tons/person/year. The research results show no difference in labor productivity between boats with a length of  $15m \leq L_{max} < 24m$  and those with  $L_{max} \geq 24m$  ( $P > 0.05$ ). Due to the similar level of expertise of the sailors in Vietnam and the similar equipment on the boats between the two groups, there is no difference in the work productivity of the fishermen on the offshore purse seine boats in Ca Mau province.

### 5.1.2. Economic efficiency

#### - Revenue

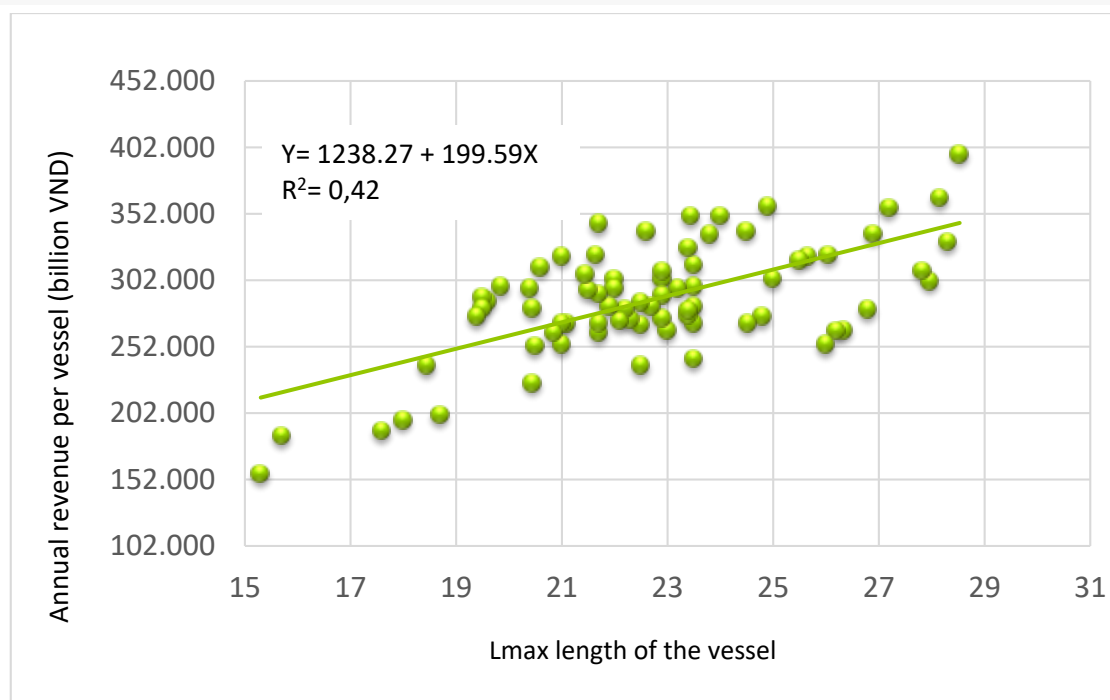
According to the survey, the revenue of the offshore purse seine fleet is shown in Table 6.

**Table 6.** Statistics on average revenue of the offshore purse seine fleet

Unit: billion Vietnamese dong

Order number	Length group	Number of survey samples	Average revenue per vessel/voyage			Revenue per vessel per year		
			Min	Max	Medium	Min	Max	Medium
1	$15m \leq L_{max} < 24m$	55	0.28	0.64	0.50	3.13	7.04	5.56
3	$L_{max} \geq 24m$	20	0.46	0.72	0.57	5.09	7.96	6.33
ANOVA			P<0.05			P<0.05		

Table 6 shows that the average annual revenue of the group of ships with  $15m \leq L_{max} < 24m$  is unstable, fluctuating between 3.13 and 7.04 billion Vietnamese dong per year. The average annual revenue of the group with  $L_{max} \geq 24m$  is relatively stable, ranging from 5.09 to 7.96 billion Vietnamese dong per year. In addition, statistical analysis results show a difference in revenue between ship size groups, specifically: in the  $L_{max} \geq 24m$  group, the average revenue of 6.33 billion Vietnamese dong per year is much higher than the group with  $15m \leq L_{max} < 24m$ , with an average revenue of 5.56 billion Vietnamese dong per year ( $P < 0.05$ ). Additionally, the average revenue per fishing trip of the  $L_{max} \geq 24m$  group is significant at 0.57 billion Vietnamese dong per fishing trip, higher than the group with  $15m \leq L_{max} < 24m$  with only 0.50 billion Vietnamese dong per fishing trip ( $P < 0.05$ ).



**Figure 3. Correlation between ship length and revenue**

The regression graph and regression equation in Figure 3 show a positive correlation between revenue and ship length. Larger ships generate more revenue. This can be explained by the fact that larger ships can carry longer fishing nets and have larger capacity machinery. Larger ships can also carry more fuel, supplies, and ice to operate for longer periods at sea, resulting in higher catch yields and thus higher revenue.

The revenue of the fishing fleet is mainly from net fishing, and most of the surveyed net fishing boats do not engage in any other activities and do not receive support from any other sources. Larger ships with larger main engines catch higher yields, and thus generate higher revenue than smaller ships with smaller engines.

#### - Variable Costs

Variable costs of net fishing boats in Ca Mau province include costs for fuel, lubricant, ice, food, water, and repair of fishing gear. Table 7 shows the variable costs of the net fishing fleet.

**Table 7. Statistics of variable costs of the net fishing fleet**

Unit: Billion Vietnamese dong

Order number	Length group	Number of survey samples	Min	Max	Medium	ANOVA
1	$15m \leq L_{max} < 24m$	55	1.78	2.71	2.40	P<0.05
2	$L_{max} \geq 24m$	20	2.48	3.37	2.82	

From Table 7, it can be seen that the average variable cost for the group of ships with  $15m \leq L_{max} < 24m$  is 2.40 billion Vietnamese dong per year, while for the group of ships with  $L_{max} \geq 24m$ , it is 2.82 billion Vietnamese dong per year, and the difference is significant ( $P < 0.05$ ). The variable cost for the larger group of ships is higher because they are equipped with engines with higher power, which leads to higher fuel consumption, and larger ships usually have more labor, resulting in higher labor costs.

The variable cost for each type of offshore purse seine fishing vessel is shown in Table 8.

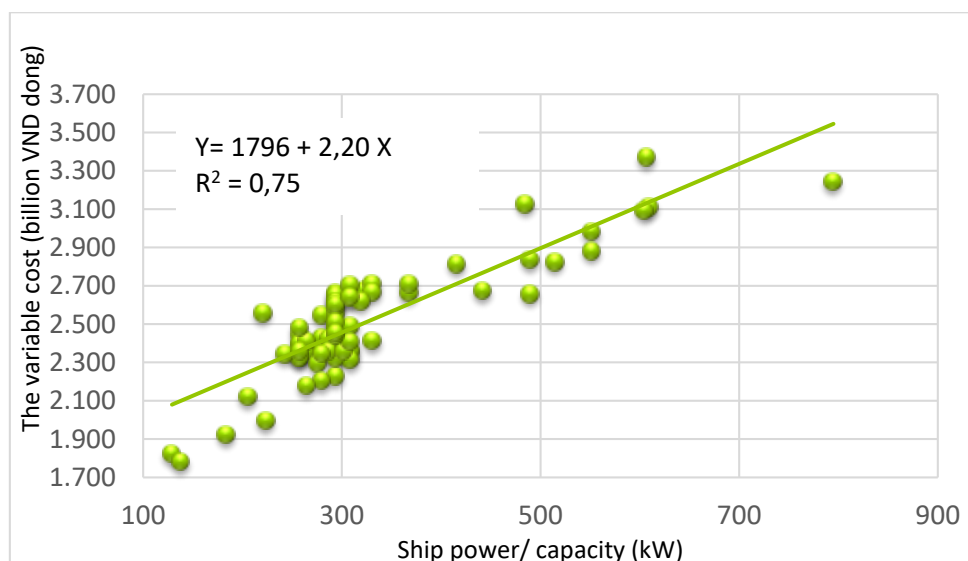
**Table 8.** Statistics of variable cost for each type of research fishing vessel in 2021

Unit: million Vietnamese dong.

Order number	Indicator	15m≤Lmax<24m		Lmax≥24m	
		Average	Percentage (%)	Average	Percentage (%)
1	Oil	1,691.02	70.60	1,995.69	70.74
2	Grease	37.27	1.56	47.12	1.67
3	Ice	46.19	1.93	52.55	1.86
4	Food and water	234.60	9.80	272.25	9.65
5	Fishing gear repair	386	16.11	453.75	16.08
Total		2,395.08	100	2,821.36	100

\*Note: The oil price is calculated at the price of 17,670 Vietnamese dong/liter as of December 31, 2021.

Table 8 shows that in the variable costs, fuel costs account for the highest proportion in both groups of vessels, averaging 70.60% and 70.74% respectively for the group of vessels with a length of 15m≤Lmax<24m and the group of vessels with a length of Lmax≥24m. Fuel consumption mainly occurs during the operation and transportation from the shore to the fishing ground and vice versa, moving to search for the fishing ground, and lighting the fishing lights. Next is the cost of repairing fishing gear, which accounts for an average of 16.11% in the group of vessels with a length of 15m≤Lmax<24m, and 16.08% in the group of vessels with a length of Lmax≥24m. The cost of food and drinking water accounts for 9.80% in the group of vessels with a length of 15m≤Lmax<24m and 9.65% in the group of vessels with a length of Lmax≥24m. Other variable costs include ice, lubricant costs, which account for a very low proportion < 2% in both groups of vessels.



**Figure 4.** The correlation between vessel capacity and vessel modification costs

The regression equation shows that the modification costs of the tuna purse seine fleet have a strong positive correlation with the vessel's engine power. The larger the main engine power of the vessel, the more fuel it consumes. As this fleet operates offshore in large vessels and engines, and uses many lights to attract fish, and has to constantly search for fish, it consumes a lot of fuel. Additionally, during the fishing season in the southern hemisphere, when the weather is unfavorable with rough waves and strong winds, more fuel is required. Large engine power results in high fuel consumption, and fuel costs account for over 70% of the modification costs. Therefore, it can be seen that as the engine power increases, the modification costs also increase.

**- Labor cost**

The survey shows that the labor on purse seine fishing boats in Ca Mau province is paid based on profit-sharing after deducting all expenses in each voyage, with a ratio of 60% for the boat owner and 40% for the crew members. The 40% will be distributed among all labor on the boat (including the boat owner if they are also the captain), while the captain and chief engineer will receive an additional 20% from the boat owner's 60%.

Table 9 shows the average labor costs on purse seine fishing boats.

**Table 9.** Statistics on average labor costs of purse seine fishing boats per voyage

Group ship length	Category	Seafarer's wages (million VND)		
		Min	Max	Medium
15m≤Lmax<24m	Total wages (million VND/voyage)	49.16	165.84	115.36
	Captain, Chief Engineer wages (million VND/person/voyage)	14.12	40.31	24.60
	Total seafarer's wages (million VND/voyage)	57.41	192.36	92.41
	Average seafarer's wages (million VND/person/voyage)	5.22	17.49	8.40
Lmax≥24m	Total wages (million VND/voyage)	94.98	167.20	127.73
	Captain, Chief Engineer wages (million VND/person/voyage)	20.53	32.95	25.75
	Total seafarer's wages (million VND/voyage)	59.72	119.49	85.64
	Average seafarer's wages (million VND/person/voyage)	5.43	10.86	7.79

Table 9 shows the labor cost on purse seine vessels. From Table 9, it can be seen that the income of crew members on the vessel also varies, with the captain and chief engineer usually earning higher income than other crew members. On average per voyage, the captain will receive around 24-25 million Vietnamese dong, while crew members will receive around 7-8 million Vietnamese dong per person. In addition, if the vessel earns significant profits during a voyage, additional money may be distributed to the crew.

The labor costs of purse seine vessels in Cà Mau province are shown in Table 20.

**Table 20.** Statistics on labor costs for the studied fleet of vessels.

Unit: billion Vietnamese dong.

Group of vessel	Sample size	Min	Max	Medium	ANOVA
15m≤Lmax<24m	55	0,541	1,824	1,268	P>0.05
Lmax≥24m	20	1,045	1,838	1,405	

Table 20 shows that the average labor cost for the group of ships with 15m ≤ Lmax < 24m is 1,268 billion Vietnamese dong per year, and for the group of ships with Lmax ≥ 24m is 1,405 billion Vietnamese dong per year. The labor cost of larger ships is usually higher than that of smaller ships, as larger ships require more labor and more experienced workers. However, statistical analysis shows no significant difference in labor costs between the group of ships with 15m ≤ Lmax < 24m and the group of ships with Lmax ≥ 24m (P>0.05). In addition to the factors of labor quantity and labor experience, labor costs also depend on many factors such as production output/voyage, number of sailors/voyage, revenue and cost/voyage. On the other hand, because labor costs of the fleet range quite widely from 0,541-1,824 billion Vietnamese dong/voyage for ships with 15m ≤ Lmax < 24m and from 1,045-1,838 billion Vietnamese dong/voyage, the overall labor costs between the two surveyed ship groups are not different.



**- Fixed costs**

The fixed costs of the purse seine fleet in Ca Mau province are shown in Table 21.

**Table 21.** Statistics of fixed costs by type of the studied fleet

Unit: Million Vietnamese dong.

Ordinal number	Indicator	15m≤Lmax<24m		Lmax≥24m	
		Average	Percentage (%)	Average	Percentage (%)
1	Insurance	1.43	1.17	1.67	1.27
2	Ship repair	40.54	33.24	49.52	37.75
3	Others	80	65.59	80	60.98
Total		121.97	100	131.19	100

Table 21 shows that among fixed costs, the highest costs are for repairing ships, ship machinery, and other expenses such as inspection and port fees. The statistics indicate that none of the fishing vessel owners in the sampled group in Ca Mau province borrowed from banks to invest in their fleet. All owners invested in their ships from their own capital, thus reducing the cost of paying interest on loans.

There is a difference in fixed costs between the two groups of ships, with 121.97 million VND per year per vessel for ships with a length of 15m≤Lmax<24m, and 131.19 million VND per year per vessel for ships with Lmax≥24m. The difference is due to the cost of insurance and ship repairs. Larger vessels require more labor, leading to higher labor insurance costs. Similarly, larger vessels equipped with more powerful machinery incur higher maintenance costs. However, according to interviews with ship owners, ship machinery does not require frequent repairs, with only periodic maintenance and oil changes. Therefore, the cost of repairing ship machinery is not too high. Other expenses are almost the same for all ships, with no significant difference.

**- Production costs**

The production cost of a fleet in a year is the sum of the costs to organize production, including fixed costs, variable costs for the fleet in that year, and labor costs for the fleet in that year. Table 22 shows the total production costs of the fleet in a year.

**Table 22.** Production cost statistics of the seine fishing fleet

Group of vessel length	Items	Production cost of the fleet (million VND)		
		Min	Max	Medium
15m≤Lmax<24m	Fix cost	110.50	131.50	122.07
	Variable cost	1,780.51	2,709.85	2,395.08
	Labor cost	540.81	1,824.29	1,286.91
	Total production cost	2,431.82	4,558.60	3,786.06
Lmax≥24m	Fix cost	116.50	151.80	131.42
	Variable cost	2,479.65	3,368.23	2,821.36
	Labor cost	1,044.78	1,839.18	1,405.05
	Total production cost	3,645.54	5,349.41	4,357.83

According to Table 22, the production cost of a fleet of seine fishing vessels with a length of 15m≤Lmax<24m fluctuated between 2,431.82 million VND and 4,558.60 million VND per year, with an average of 3,786.06 million VND. The production cost of a fleet of fishing vessels with Lmax≥24m ranged from 3,645.54 million VND to 5,349.41 million VND, with an average of 4,357.83 million VND.

**- Profit**

The profit of the seine fishing fleet in a year is calculated by subtracting the production cost of the fleet in a year from the revenue of the fleet in that year. The profit is shown in Table 23.

**Table 23.** Average profit statistics of the seine fishing fleet

Unit: million VND.

Vessel length group	Category	Fleet profit (million VND)		
		Min	Max	Medium
15m≤Lmax<24m	Revenue	3,133.53	7,041.74	5,567.36
	Production cost	2,431.82	4,558.60	3,786.06
	Fleet profit	700.71	2,610.44	1,781.30
Lmax≥24m	Revenue	5,092.45	7,966.19	6,333.98
	Production cost	3,645.54	5,349.41	4,357.83
	Fleet profit	1,446.07	2,616.77	1,976.15

Table 23 shows that the average profit of the group of ships with 15m≤Lmax<24m ranges from 700.71 million Vietnamese dong to 2,610.44 million Vietnamese dong, with an average of 1,781.30 million Vietnamese dong per year per ship. In the group of ships with Lmax≥24m, the average profit per year per ship is 1,976.15 million Vietnamese dong. These results indicate that ships with larger size and engine power tend to have higher profits compared to those with smaller size and engine power.

#### - Profitability ratio

Table 24 shows the economic efficiency indicators of the offshore purse seine fleet in Ca Mau province.

**Table 24.** Economic efficiency indicators of offshore gillnet fishing

Chỉ số	Index Length group	
	15m≤Lmax<24m	Lmax≥24m
Average revenue (million VND)	5,567.36	6,333.98
Average production cost (million VND)	3,786.06	4,357.83
Average profit (million VND)	1,781.30	1,976.15
Profit margin/revenue	0.27	0.27
Profit margin/cost	0.39	0.39

Profit margin/revenue ratio: The profit margin/revenue ratio indicates how many Vietnamese dong of profit the ship owner will receive for every Vietnamese dong of revenue earned. The higher the value, the more effective the operation of the ship. The results show that the profit margin/revenue ratio of the fleet with Lmax ≥ 24m is not higher than that of the fleet with 15m≤Lmax<24m, which means the efficiency of the ≥ 24m fleet is equivalent to that of the 15m≤Lmax<24m fleet. Specifically, for the ≥ 24m fleet, for every Vietnamese dong of revenue generated, they earn 0.27 Vietnamese dong of profit, and for the 15m≤Lmax<24m fleet, they also earn 0.27 Vietnamese dong of profit for every Vietnamese dong of revenue generated.

Profit margin/cost ratio: The profit margin/cost ratio tells us how much value of profit the ship owner receives for every Vietnamese dong of cost incurred on average. The research results show that for every Vietnamese dong of cost incurred, both the ≥ 24m and 15m≤Lmax<24m fleets generate the same profit value of 0.39 Vietnamese dong.

#### 5.2. Effectiveness in protecting aquatic resources

According to the investigation, the main target of purse seine fishing vessels in Ca Mau province are mostly skipjack tuna, yellowfin tuna, and bigeye scad. Other fish species such as mackerel, tuna, and squid have a very small proportion and therefore were not included in this evaluation. Purse seine fishing vessels sell their catch to logistics support vessels and the author did not have the opportunity to sample from these purse seine fishing vessels. Thus, the author randomly collected three samples of catch from the logistics support vessels (the catch samples were not categorized by species) and measured their lengths. For fish species with forked tails, the length was measured from the mouth to the forked tail. For fish species without forked tails, the length was measured from the mouth to the end of the tail.



**Figure 5. Measuring the length of catch products from purse seine fishing**

Based on the sample survey results, the author divided the sizes into two groups: a group with lengths smaller than the minimum size regulated in Circular No. 62/2008/TT-BNN, and a group with lengths from the minimum size to the maximum catch size. For the group with lengths smaller than the minimum size, the size of the fish ranged from 160-218mm for skipjack tuna, accounting for 7.39%, 70-119mm for anchovy, accounting for 11.99%, and 65-148mm, accounting for 13.46% for ponyfish. For the group with lengths larger than the minimum size, the size of the fish ranged from 220-430mm for skipjack tuna, accounting for 14.12%, 120-209mm for anchovy, accounting for 26.11%, and 150-205mm for ponyfish, accounting for 26.93%.

The measured lengths of the catch products are shown in Table 25.

**Table 25.** Frequency table of length measurements for captured subjects of purse seine fishing industry.

Fish species	Length measurement group (mm)	Number of individuals	Percentage (%)		Minimum legal size (mm)"
			Less than minimum size	More than minimum size	
Yellowfin tuna	<220	45	7.39		220
	≥220	86		14.12	
Indian mackerel	<120	73	11.99		120
	≥120	159		26.11	
Silver pomfret	<150	82	13.46		150
	≥150	164		26.93	
Total		609			

According to Table 25, tuna, mackerel, and silver pomfret with sizes below the minimum size regulation allowed for fishing as stipulated in Circular 62/2008/TT-BNN have catch rates of 7.39%, 11.99%, and 13.46%, respectively. However, as also stipulated in Circular 62/2008/TT-BNN, the permissible rate of small catches below the regulated size is not to exceed 15% of the total harvested seafood volume. Random sampling shows that the rate of small fish caught is less than 15%, indicating that the rate of small fish caught in the harvested volume of these fish species is not in violation of regulations.

According to current laws and regulations in Vietnam such as the Fisheries Law 2017, Decree No. 26/2019/NĐ-CP of March 8, 2019 providing detailed regulations and measures for implementing the Fisheries Law, Circular 19/2018/TT-BNNPTNT of November 15, 2018 providing guidelines for the protection and development of aquatic resources, Circular 01/2022/TT-BNNPTNT of January 18, 2022 amending and supplementing certain circulars in the field of fisheries, and the list of prohibited fishing

activities and fishing gear, fishing with gillnets is not considered a fishing method that poses a risk of adverse impacts on the resources and living environment of aquatic species.

The investigation and survey results show that the average mesh size for the fish catching part of the research vessel fleet is  $2a = 22\text{mm}$ , which is larger than the mesh size stipulated in Circular 19/2018/TT-BNNPTNT of the Ministry of Agriculture and Rural Development for gillnet fishing ( $2a = 20\text{mm}$ ).

The fishing grounds of the gillnet fleet operating far from shore for research purposes in offshore and distant sea areas, based on information from shipowners and extracted information from tracking devices, have not detected any cases of fishing vessels violating regulations on harvesting seafood in the wrong areas.

## 5.2. Social efficiency

Based on the results of the survey on the income of workers on fishing boats, it is shown that the purse seine fishing fleet in Ca Mau province plays an important role in providing employment for workers in the district as well as some neighboring districts. The number of workers on purse seine fishing boats is usually higher than that of other fishing boats, with an average of 11-17 workers per boat. The number of purse seine fishing boats in Ca Mau province is 149, which has provided jobs for more than 2,111 workers, accounting for 25.35% of the total number of workers in the province. The income of fishermen on purse seine fishing boats is quite high compared to fishermen on other fishing boats and the average rural labor force. The average income of captains and chief engineers is 25 million Vietnamese dong/month, while the average income of crew members is 8.2 million Vietnamese dong/month and may be higher depending on the profit of the boat.

According to the Statistical Yearbook of Ca Mau province in 2019 [7], the per capita income (GDP) of the province in 2019 was 51.63 million Vietnamese dong/person/year or 4.3 million Vietnamese dong/person/month. Therefore, in 2021, workers on the purse seine fishing fleet in Ca Mau province had an average monthly income that was 5.8 times higher (compared to captains and chief engineers) and 1.9 times higher (compared to crew members) than the per capita income of the province in 2019. Compared to the average income of workers in limited liability companies and private enterprises in the province in 2018, the average income of workers on purse seine fishing boats in Ca Mau province in 2021 is much higher than that of workers in companies and enterprises in the area. Specifically, the average income of workers in limited liability companies in the province in 2018 was 5.7 million Vietnamese dong/person/month, while that of workers in private companies was 3.7 million Vietnamese dong/person/month. Therefore, in 2021, workers on purse seine fishing boats had an average monthly income that was 4.4 times higher (compared to captains and chief engineers) and 1.4 times higher (compared to crew members) than that of workers in limited liability companies, and was 6.7 times higher (compared to captains and chief engineers) and 2.2 times higher (compared to crew members) than that of workers in private companies in Ca Mau province.

Compared to the average income of workers in agricultural, forestry, and fisheries enterprises in Ca Mau in 2018, the average income of workers on the purse seine fishing boats in Ca Mau province in 2021 is 5.8 times higher and 1.9 times higher than the average income of workers in agricultural-forestry-fisheries enterprises in the area in 2018.

**Table 26.** Average monthly income per capita statistics.

Category	Unit	Value
Average income of the captain, chief engineer on offshore purse seine vessels	Million Vietnamese Dong/person/month	25.00
Average income of workers on offshore purse seine vessels	Million Vietnamese Dong/person/month	8.20
Average per capita income in Cà Mau province in 2019	Million Vietnamese Dong/person/month	4.30
Average income of workers in private companies in Cà Mau in 2018	Million Vietnamese Dong/person/month	3.70
Average income of workers in LLCs in Cà Mau in 2018	Million Vietnamese Dong/person/month	5.70

Average income of workers in agriculture, forestry, and fisheries companies in Cà Mau in 2018	Million Vietnamese Dong/person/month	4.30
---	--------------------------------------	------

## **5. CONCLUSION AND POLICY IMPLICATIONS**

### **5.1. Conclusion**

Through the investigation of the efficiency of offshore fishing nets in Ca Mau province, Vietnam, the study has evaluated the effectiveness of the fishing nets based on indicators of exploitation efficiency, economic efficiency, social efficiency, effectiveness in protecting aquatic resources, and effectiveness in protecting specific islands and seas, as follows:

The fishing vessels using the offshore fishing nets in Ca Mau province maintain stability in terms of quantity, with high length and capacity, and most of the vessels have a length of 15 meters or more. Among them, there are 26 vessels with a length of 24 meters or more, accounting for 17.45%, and 123 vessels with a length of 15 meters to less than 24 meters, accounting for 82.55%. In the group of vessels with a size of 15 meters to less than 24 meters, the average length/width/height is (21.43/6.17/2.32) meters, while in the group of vessels with a length of 24 meters or more, the average length/width/height is (26.26/7.55/2.56) meters. In the group of vessels with a size of 15 meters to less than 24 meters, the smallest engine power is 129 kW, the largest engine power is 442 kW, and the average engine power is 281 kW. In the group of vessels with a length of 24 meters or more, the smallest engine power is 221 kW, the largest engine power is 795 kW, and the average engine power is 442 kW.

In the group of vessels with a size of 15 meters to less than 24 meters, the length of the fishing nets ranges from 500 meters to 1,250 meters, with an average of 893 meters and an average net height of 70 meters. In the group of vessels with a length of 24 meters or more, the length of the fishing nets ranges from 900 meters to 1,300 meters, with an average of 1,085 meters and an average net height of 90.5 meters. The length of the fishing nets tends to increase with the length and capacity of the vessel.

On the efficiency of exploitation: the average exploitation output of the group of vessels with Lmax from 15m to less than 24m is 277,121 tons/year, while the average exploitation output of the group of vessels with Lmax from 24m and above is 315,280 tons/year. There is a difference in the exploitation output between the two groups of vessels, and the exploitation output tends to increase with the vessel size and capacity. Therefore, the productivity of the purse seine vessels increases with the increase in length and vessel capacity.

On the economic efficiency: the average revenue of the group of vessels with Lmax from 15m to less than 24m is 5.567 billion Vietnamese dong/year, while the average revenue of the group of vessels with Lmax from 24m and above is 6.334 billion Vietnamese dong/year. The revenue tends to increase with the increase in length and engine capacity of the vessel.

On the profit efficiency: the average profit of the group of vessels with a size from 15m to less than 24m is 1.781 billion Vietnamese dong/year/vessel, and in the group of vessels with a size from 24m and above is 1.976 billion Vietnamese dong/year/vessel.

On the social efficiency: this has solved the employment issue for laborers in the province, with an average of 14-17 laborers per vessel. The entire purse seine fleet survey in Ca Mau province has provided jobs for over 2,000 laborers, accounting for 25.35% of the total number of laborers engaged in exploitation in Ca Mau province. The average income of laborers on purse seine vessels for captains and chief engineers is around 25 million VND/month, and for crew members is around 8.2 million VND/month and may be higher depending on the vessel's profit. Laborers on purse seine vessels have a higher monthly income than those working for LLCs and private companies in the district.

On the efficiency of protecting aquatic resources: the vessel group researched has mesh size suitable for the regulations on mesh size for purse seine fishing as stipulated in Circular No. 19/2018/TT-BNNPTNT dated November 15, 2018 of the Minister of Agriculture and Rural Development on Guidelines for the Protection and Development of Aquatic Resources. Purse seine fishing is a selective exploitation method that has little impact on resources and the environment.

On the efficiency of preserving the seas and islands: through the presence of offshore fishing vessels, including 1,258 vessels and 7,548 fishing trips, the group of 75 offshore purse seine vessels with 825 fishing trips per year has contributed to protecting and preserving the country's seas and islands.

## **5.2. Policy implications to enhance the production efficiency of offshore fishing nets in Ca Mau province**

### **5.2.1. Solution to improve the quality of human resources training**

#### **5.2.1.1. Basis for proposal**

##### a) Based on practical experience

Based on the research results of the project, the majority of laborers on offshore fishing nets have a level of education from primary school and below, and a very small percentage have an education level of high school and above. Specifically, 10.8% are illiterate, 58.1% have a primary education level, 29.85% have a secondary education level, and only about 1.25% have an education level of high school and above. Low education levels pose limitations for the captain, chief engineer, and crew members in accessing and acquiring advanced fishing techniques, managing technical machinery and equipment, as well as keeping a fishing log.

There are still many crew members who have not been trained or professionally developed in fishing vessel operations and exploitation, accounting for 66.02%. They perform their work based on the knowledge passed down from those who came before or based on practical experience accumulated while fishing at sea.

- The proportion of workers under 18 years old participating in offshore gillnet fishing is 1.14%. Workers under 18 years old are prohibited from performing diving, offshore fishing, and offshore aquaculture jobs. On the other hand, fishermen working on offshore and coastal fishing vessels belong to the group of arduous, dangerous jobs, subject to the effects of waves, wind, noise, and vibration (as regulated in the List of arduous, toxic and hazardous occupations and jobs, and special arduous, toxic and hazardous occupations and jobs issued with Circular No. 11/2020/TT-BLĐTBXH dated November 12, 2020 of the Minister of Labor, War Invalids and Social Affairs) [1]. Employers who violate this regulation will be administratively fined from 50 million to 75 million VND (based on point c, clause 3, Article 29 of Decree No. 12/2022/ND-CP dated January 17, 2022 of the Government) [6]. Moreover, the use of juvenile labor on fishing vessels also has a significant impact on Vietnam's reputation in seafood exploitation as well as its efforts in addressing IUU yellow card. Therefore, measures should be taken to terminate the use of workers under 18 years old in seafood exploitation.

##### b) Legal basis

Fisheries Law No. 17/2017/QH14 passed by the National Assembly of the Socialist Republic of Vietnam, XIV Legislature, 4th session on November 21, 2017;

Labor Code No. 45/2019/QH14 dated November 20, 2019;

Decree No. 26/2019/NĐ-CP dated March 8, 2019 of the Government detailing some articles and measures for implementation of the Fisheries Law;

Decree No. 12/2022/NĐ-CP dated January 17, 2022 of the Government on handling of administrative violations in the fields of labor, social insurance, and Vietnamese employees working under contracts in foreign countries;

Circular No. 23/2018/TT-BNNPTNT dated November 15, 2018 of the Minister of Agriculture and Rural Development regulating the registration of fishing vessels, the recognition of fishing vessel registration centers, ensuring the technical safety of fishing vessels and fishery surveillance vessels, and registration and marking of fishing vessels;

Circular No. 11/2020/TT-BLĐTBXH dated November 12, 2020 issuing the list of arduous, hazardous, and dangerous occupations and specialized arduous, hazardous, and dangerous occupations.

#### 5.2.1.2. Solution content and implementation method

There is a need for policies to encourage ship owners and fishermen to access science and technology through presentations on the application of modern equipment, opening vocational training classes for fishing and training for captains, chief engineers, and sailors.

Strengthening propaganda to ship owners and labor users about the regulations of the law on the use of underage labor, prohibited behaviors, and administrative penalties for violations of labor use for those under 18 years old. Propaganda in many forms such as combining with seminars, introducing new equipment, training, vocational training, and food safety training for fishing boats. The Fisheries Management Department, the Fishing Vessel Registration Center, issue propaganda flyers with content attached to the fishing boat dossier when the ship owner renews or registers a new dossier.

Coordinate with the Border Guard agency to strictly screen underage workers when ships leave for fishing.

Encourage fishermen to focus on educating their children, avoid dropping out of school too early, and participate in professional training to improve the skills of future generations of fishermen.

#### 5.2.1.3. Feasibility assessment of the solution

The Fisheries Department will open specialized vocational training classes for captains, chief engineers, and sailors, and combine food safety propaganda with the dissemination of regulations on the use of labor under 18 years old. Annually, the Fisheries Management Department and the Fishing Vessel Registration Center will register, issue permits, extend licenses, and inspect over 3,000 fishing vessels, which will also distribute propaganda flyers. The solution is feasible.

### **5.2.2. Conservation and consumption solutions for caught products**

#### **5.2.2.1. Proposed basis**

##### a) Practical basis

According to the survey of the quality of caught objects in the fishing net profession, the quality is often not high, leading to a decrease in selling price. The reasons are: the storage compartment for caught products and the ice water on the boat are not well insulated; the level of labor for fish preservation is not high, the ratio of fish to ice water is not appropriate, not following the ratio of 1:1; the quality of ice water is not high, not ensuring enough coldness; the fish is preserved in nylon bags or on the deck without a tray with drain holes, causing the fish to be easily bruised when arriving onshore. Therefore, to increase product quality and value, in addition to preserving products according to technical standards, there must be innovative preservation technologies after harvesting to increase production efficiency.

Most distant fishing net boats sell products at sea to DVHC boats, although selling products to buying boats or fish markets, the boat owners are often controlled or pressured on prices when many boats come to sell at the same time, or due to the unstable export prices. However, boat owners also only consume products through the above method because the funding source for purchasing is timely for each sea trip.

##### b) Legal basis

National technical regulations QCVN 02-13:2009/BNNPTNT on fishing vessels - conditions for ensuring food hygiene and safety issued together with Circular 47/2009/TT-BNNPTNT dated July 31, 2009 by the Ministry of Agriculture and Rural Development.

Decision No. 712/2010/QĐ-TTg dated May 21, 2010 by the Prime Minister on approving the national program "Improving productivity and quality of products and goods of Vietnamese enterprises by 2020";

Decree No. 210/2013/NĐ-CP dated December 19, 2013 by the Government on policies to encourage enterprises to invest in agriculture and rural areas;

Decree No. 55/2015/NĐ-CP dated June 09, 2015 by the Government on credit policies to serve the development of agriculture and rural areas;

Resolution 48/NQ-CP dated September 23, 2009 on mechanisms and policies to reduce post-harvest losses for agricultural and aquatic products.

Decision No. 65/2011/QD-TTg dated December 2, 2011 on support policies in the field of reducing post-harvest losses for agricultural and aquatic products.

#### **5.2.2.2. Solution content and implementation method**

Product preservation is a critical step that greatly impacts the quality of fish and the value of the harvested product. Currently, both trawlers and most other types of fishing vessels use ice to preserve their catch. The fish are placed in plastic trays and covered with ice, with the fish-to-ice ratio typically being 2:1 based on the experience of fishermen. The trays of fish are then stored in cold storage compartments, with temperatures usually fluctuating between 0-5°C, so the preservation time is not long, and the quality of the ice is not always optimal. In the future, local authorities need to support fishermen in finding new and improved preservation methods to maintain the best possible quality of fish. Additionally, there is a need to develop logistics vessels to transport the product to shore, reducing the time for fish preservation and fuel costs for fishing vessels. Furthermore, improvements are required for the storage and preservation techniques of logistics vessels to ensure the quality of the harvested product and increase its value.

To prevent the situation where buyers force down prices during peak harvest season, the provincial People's Committee of Ca Mau needs to establish a production chain connecting harvesting, purchasing, processing, and product consumption, linking boat owners with processing plants. Creating many communication channels, e-commerce platforms specializing in fresh and clean seafood products of the province's trawl fishing industry, linking with supermarket chains and food supply systems nationwide to create a stable market for fish. Supporting policies are also necessary to invest in technology to increase the value of harvested products in general and trawl fishing products in particular.

Implement supportive policies, encourage fishermen and investors to invest in advanced equipment to serve product preservation on fishing vessels. Investment in building processing facilities and supporting the development of processing technologies to increase the value of harvested products is also crucial.

#### **5.2.2.3. Evaluating the feasibility of the solution**

The feasibility of the solution for preserving and consuming the catch products will depend on various factors, including economic, environmental, social, and policy feasibility. The following are some factors to consider when evaluating the feasibility of this solution:

**Economic feasibility:** Solutions for preserving and consuming catch products need to be economically feasible to ensure that they are effective and can be sustainably implemented. If the cost of the solution is too high, it may not be widely applicable, and investors may not be interested. However, if the solution provides significant economic benefits, such as increasing income for fishermen and improving the productivity of businesses, it may become a feasible solution.

**Environmental feasibility:** Solutions for preserving and consuming catch products need to be evaluated for environmental feasibility to ensure that they do not harm the environment and other organisms. If the methods for preserving products are not implemented correctly, they can cause environmental pollution and affect marine life. However, if preservation solutions are applied correctly, they can help protect catch resources and maintain biodiversity in the marine environment.

**Social feasibility:** Solutions for preserving and consuming catch products need to be evaluated for social feasibility to ensure that they are accepted and supported by local communities in Vietnam. If these solutions cause disputes or opposition from local communities, they may face significant challenges.

#### **REFERENCES**

Ministry of Labor, Invalids and Social Affairs (2020), Circular No. 11/2020/TT-BLĐTBXH dated November 12, 2020, issuing the List of arduous, toxic and dangerous occupations and the List of particularly arduous, toxic and dangerous occupations.

Ministry of Agriculture and Rural Development (2008), Circular No. 62/2008/TT-BNN dated May 20, 2008, amending and supplementing some contents of Circular No. 02/2006/TT-BTS dated March 20,



2006, guiding the implementation of Decree No. 59/2005/ND-CP dated May 4, 2005 on conditions for production and business in some aquatic sectors.

Bui Van Tho (2021), "Evaluation of the production efficiency of newly-built fishing vessels for trawl net fishing according to Decree 67/2014 in Quang Binh", Master's thesis in Aquatic Resources Management, Nha Trang University.

Department of Fisheries of Ca Mau Province (2021), Table of the number of laborers engaged in fisheries exploitation in Ca Mau province.

Department of Fisheries of Ca Mau Province (2021), Summary table of the number of fishing vessels by Lmax group in Ca Mau province.

Government (2022), Decree No. 12/2022/ND-CP dated January 17, 2022, regulating administrative sanctions in the field of labor, social insurance, and Vietnamese workers working abroad under Vietnamese contracts.

Ca Mau Statistical Office (2020), Statistical Yearbook of Ca Mau Province 2019.

Nguyen Dang Nhat and colleagues (2020), "Effectiveness of LED lights in fisheries exploitation on offshore seine fishing vessels in Gio Linh district, Quang Tri province."

Nguyen Duc Sy (2006), "Study on some solutions to improve the effectiveness of light sources in offshore seine fishing combined with light", PhD thesis, Nha Trang University.

Nguyen Nhu Son (2011), Evaluating the effectiveness of light usage in purse seine fishing in Ninh Thuan province for small fish species, Master's thesis in Fisheries exploitation engineering, Nha Trang University.

Nguyen Thi Oanh (2018), Evaluating the economic efficiency of offshore purse seine fishing combined with light in Nha Trang city, Khanh Hoa province, Master's thesis in Economic Development, Nha Trang University.

Nguyen Trong Luong (2009), "Economic performance indicators for coastal fisheries - the case of purse-seining in Cam Ranh and Nha Trang", Journal of Science and Technology in Fisheries, 4/2009, Nha Trang University.

Nguyen Trong Luong, Pham Thi Thanh Thuy, and Vu Ke Nghiep (2020), "Evaluating the effectiveness of tuna longline fishing fleet in Khanh Hoa province", Agriculture and Rural Development, Issue 2, May 2020, pp.126 - 133.

Nguyen Tuan, Nguyen Thi Kim Anh, Ola Flaaten, Phan Thi Dung, and Nguyen Thi Tram Anh (2007), "Analysis of factors affecting revenue of purse seine fishing for tuna in Nha Trang", Journal of Science and Technology in Fisheries, Issue 01/2007, Nha Trang University.

Nguyen Van Nhuan (2018), "Evaluating the effectiveness of using LED lights in offshore purse seine fishing in Khanh Hoa province", Vietnam Fisheries, 22(293), pp.58-60.

Pham Thi Thanh Thuy (2007), Evaluating the economic results of purse seine fishing in Cam Ranh town, Khanh Hoa province, Master's thesis, Nha Trang University.

Pham Tuan Anh (2016), Evaluating the effectiveness of lift net fishing in Nghia Hung district, Nam Dinh province, Master's thesis, Nha Trang University.

National Assembly (2019), Law No. 45/2019/QH14 dated November 20, 2019, Labor Law.

Thai Van Ngan (2004), Technical manual for purse seine fishing, Agriculture in Ho Chi Minh City.

Tran Hoang Tuan (2016), Evaluating the production efficiency of a fleet of purse seine fishing vessels built under the provisions of Decree 67/2014 in Quang Binh province, Master's thesis in Fisheries Management, Nha Trang University.

Tran Thi Kim Quyen (2018), Evaluating the production efficiency of fishing net operating teams under Decree 67/2014 in Quang Binh, Master's thesis in Aquaculture Management, Nha Trang University.

Trinh Van Thuc (2014), Improving the efficiency of fishing with nets in Tinh Gia district, Thanh Hoa province, Master's thesis in Fisheries Exploitation, Nha Trang University.

Provincial People's Committee of Ca Mau (2017), Report on the overall plan for fisheries exploitation in Ca Mau province until 2025, vision to 2035.

Provincial People's Committee of Ca Mau (2021), Report on the plan to protect resources, aquaculture, and fisheries exploitation in Ca Mau during the period of 2021-2030, vision to 2050, including the development plan for fishing ports, anchorages for fishing boats to avoid storms, post-fishing service areas, and infrastructure for the development of aquatic breeding and farming.

Provincial People's Committee of Ca Mau (2022), Official letter No. 1870/UBND-TH dated April 6, 2022 regarding the use of unified socio-economic data for 2021.

Vu Duyen Hai (2008), Evaluating the level of offshore seafood exploitation technology, Summary report, National Promotion Center for Agriculture and Fisheries Promotion.

Baum G.A. (1978a), A cost/benefit calculation for "Bagan Siapi-api" trawlers operating from Semarang/Central Java, People's Fisheries Modernization Symposium, June 27-30, 1978, Jakarta.

Domingo A.A.S. (1978), Analysis of differences in the cost and return ratio of purse seines and trawlers in the Pekalongan District, Fakultas Peternakan dan Perikanan, Universitas Diponegoro, Semarang. 73p M.S.thesis.

Huvanandana D. (1973), The economies of fisheries, Thammasat University, Bangkok, M.S.thesis.

Kumpa L. (1981), Production and profitability analysis of small-scale fisheries: the case of Chumporn, 1978, Department of Agricultural Economies, Kasetsart University, Bangkok, M.S.thesis.

Per Sparre and Siebren C. Venema (1989), Introduction to tropical fishstock assessment, FAO fisheries Technical Paper 306/1 Rev.2, FAO-FIAT PANIS, Rome, 407pp.

Sean Pascoe and Simon Mardle (2003), Efficiency analysis in EU fisheries: Stochastic Production Frontiers and Data Envelopment Analysis.

Taro Yamane (1967), Statistics: An introductory analysis. 2nd Ed, New York: Harper and Row.

"Tietze U., J Prado, J-M. Le Ry và R. Lasch (2001), Techno-economic performance of marine capture fisheries., Rome. FAO, FAO FISHERIES TECHNICAL, pp. 421".

"Tietze U.T.W., Lasch R., Thomsen B. và Rihan (2005), D. Economic performance and fishing efficiency of marine capture fisheries, FAO Fisheries Technical Paper. No.482.Rome, FAO.2005.68pp".

[https://www.mpi.gov.vn/Pages/tinhthanhchitiet.aspx?idTinhThanh=20#:~:text=C%C3%A0%20Mau%20c%C3%B3%20b%E1%BB%9D%20bi%E1%BB%83n,147%20km%20b%E1%BB%9D%20bi%E1%BB%83n%20T%C3%A2y,\(www\\_Electronic Information Portal of the Ministry of Planning and Investment, 2022, Natural conditions of Ca Mau province\)](https://www.mpi.gov.vn/Pages/tinhthanhchitiet.aspx?idTinhThanh=20#:~:text=C%C3%A0%20Mau%20c%C3%B3%20b%E1%BB%9D%20bi%E1%BB%83n,147%20km%20b%E1%BB%9D%20bi%E1%BB%83n%20T%C3%A2y,(www_Electronic%20Information%20Portal%20of%20the%20Ministry%20of%20Planning%20and%20Investment,2022,Natural%20conditions%20of%20Ca%20Mau%20province),), accessed on October 15, 2021.

[https://www.camau.gov.vn/wps/portal/bando,\(www\\_Electronic Information Portal of Ca Mau province, Vietnam 2022, Administrative map of Ca Mau province\)](https://www.camau.gov.vn/wps/portal/bando,(www_Electronic%20Information%20Portal%20of%20Ca%20Mau%20province,Vietnam%202022,Administrative%20map%20of%20Ca%20Mau%20province),), accessed on October 6, 2022.

[https://www.camau.gov.vn/wps/portal/?1dmy&page=trangchitiet&urile=wcm%3Apath%3A/camaulibrary/camaufsite/gioithieu/tongquan/diagioihanhchinh/huyen+tran+van+thoi,\(www\\_Electronic Information Portal of Ca Mau province, Vietnam 2022, Overview of Ca Mau province\)](https://www.camau.gov.vn/wps/portal/?1dmy&page=trangchitiet&urile=wcm%3Apath%3A/camaulibrary/camaufsite/gioithieu/tongquan/diagioihanhchinh/huyen+tran+van+thoi,(www_Electronic%20Information%20Portal%20of%20Ca%20Mau%20province,Vietnam%202022,Overview%20of%20Ca%20Mau%20province),), accessed on August 7, 2022.

[https://www.camau.gov.vn/wps/portal/?1dmy&page=gioithieu.chitiet&urile=wcm%3Apath%3A/camaulibrary/camaufsite/gioithieu/tongquan/dieukientunhien/tai+nguyen+bien,\(www\\_Electronic Information Portal of Ca Mau province, Vietnam 2022, Marine resources\)](https://www.camau.gov.vn/wps/portal/?1dmy&page=gioithieu.chitiet&urile=wcm%3Apath%3A/camaulibrary/camaufsite/gioithieu/tongquan/dieukientunhien/tai+nguyen+bien,(www_Electronic%20Information%20Portal%20of%20Ca%20Mau%20province,Vietnam%202022,Marine%20resources),), accessed on September 6, 2022.

[https://vasep.com.vn/chong-khai-thac-iuu/tin-tuc-iuu/nam-2020-vasep-phat-hanh-clip-va-to-roi-de-truyen-thong-chong-khai-thac-iuu-10844.html,\(www\\_Vietnam Association of Seafood Exporters and Producers\)](https://vasep.com.vn/chong-khai-thac-iuu/tin-tuc-iuu/nam-2020-vasep-phat-hanh-clip-va-to-roi-de-truyen-thong-chong-khai-thac-iuu-10844.html,(www_Vietnam%20Association%20of%20Seafood%20Exporters%20and%20Producers),)

Producers, 2020, In 2020, VASEP released clips and flyers to communicate about combatting IUU fishing), accessed on October 6, 2022.

<http://khafa.org.vn/?file=privateres/htm/khathacts/b09.htm.aspx>, (www\_Khanh Hoa Fishery Association, Fishing with surrounding nets), accessed on March 11, 2022.

<http://www.rimf.org.vn/baibaocn/chitiet/tinid-1088>, (www\_Institute of Marine Research, 2008, Technical research on fishing for tuna using offshore purse seine combined with fish finder), accessed on September 6, 2022.

**DISTRIBUTION AND CONTROLLED STORAGE OF THE MEDICINAL SPECIES  
GLYCYRRHIZA GLABRA L.**

*Stanislava Stateva*

*Agricultural Academy, Institute of Plant Genetic Resources, „ Konstantin Malkov” Sadovo, Plovdiv,  
Bulgaria*

*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6016-2904>*

**ABSTRACT**

The natural deposits of *Glycyrrhiza glabra* L. in Bulgaria are located along the Danube and Yantra rivers. The species is represented by two varieties var. *glabra* and var. *grandulifera*. The medicinal species is a moisture-loving plant and is found along rivers, along the banks of irrigation canals and reservoirs. It grows successfully on saline soils unsuitable for other agricultural crops. Thanks to its ability to develop a powerful root system, it is successfully used to strengthen sandy screes. The roots are used, containing mainly polysaccharides, flavonoids and saponins. In the pharmaceutical industry, it is involved in a wide range of medicinal preparations (for lowering blood pressure, treating ulcers, diabetes, etc.). It can be used as an ornamental plant and participate in the construction of an organic garden. The roots are used, containing mainly polysaccharides, flavonoids and saponins. The species *Glycyrrhiza glabra* L. contains 6–12% glycyrrhizin, to which it is attributed the sweet taste of the root and its healing action. Glycyrrhizin is about 50 times sweeter than sugar. In addition to glycyrrhizin, various flavonoids have been found in the drug, some of which are biologically active the flavanone liquiricigenin and the chalcone isoliquiricigenin. They are contained in the roots the hydroxycoumarins – umbelliferone, herniarin and licumarin. Also glucose, sucrose, mannitol, starch (25–30%), essential oil, asparagine, sterols (beta-sitosterol), etc., and in the aerial parts – a large amount of crude protein (up to 14.3%), fat (up to 7%) and carbohydrates. The intensive collection of herbs from nature leads to the disappearance of sites or to a sharp reduction in their number, which has a detrimental effect especially on species with a limited area of distribution. Due to its biological value, *Glycyrrhiza glabra* L. is a "priority species" category and is protected by the Law on Biodiversity and is included in the Red Book of Bulgaria.

**Keywords:** Micropropagation, in vitro storage, proliferation, HPLC analysis

The intensive collection of herbs from nature leads to the disappearance of sites or to a sharp reduction in their number, which has a detrimental effect especially on species with a limited area of distribution. Which requires them to be studied more thoroughly in order to preserve the plant genetic material.

The species *Glycyrrhiza glabra* L. is from the family Fabaceae, genus *Glycyrrhiza*. According to Todorov (1977), the species *Glycyrrhiza glabra* var. *glabra* is found along the Danube river and was brought to Bulgaria by herbalists. The species is a perennial herbaceous plant, forming powerful underground stems. The aerial stems are erect up to 105 cm high, strongly branched. Leaves are pinnately longer than the internodes with pointed lanceolate stipules. The pairs of leaves are 7-8, ovate, bluntly pointed at the top, glandular fibrous along the veins. The flowers are collected in loose, globose-cylindrical inflorescences. The flowers are sessile. The calyx is shorter than the corolla, fused with 5 veins and 5 linear lanceolate teeth. The corolla is up to 12 mm long, light purple. The flagellum is shorter than the petura, rounded at the top and pinched at the base. The wings are equal to the pennant. The ladybird is equal to the pennant and the wings. Pollination is cross, entomophilous. The carpel is linear. The bean is smooth or glandular-fibrous flattened. The seeds are 2-3.0 cm in diameter, rusty-brown (photo 1, source [www.terrapia.bg](http://www.terrapia.bg)). The seeds from the natural deposits are characterized by a high percentage of hard seeds and a low percentage of germination.

The duration of the growing season is 180 days. In the first year, the species develops slowly, but in the second year it forms a powerful woody stem.



Photo 1 Botanical characteristics of *Glycyrrhiza glabra* L.

The European Flora (Jeo, 1968) gives information on intraspecific variability and the distribution of the species in southern Europe and the Middle East. Varieties of the species *Glycyrrhiza glabra* L. are:

var. *echinata*, distributed in Southeastern Russia and Eastern Siberia

var. *uralensis*, distributed in Siberia, central Asia and Mongolia

var. *pallidiflora* occurring in China (Lange, 1998)

var. *glabra* occurs in southern Europe, Asia, Punjab, Jammu, Kashmir and in southern India (Krusheva, 1978; Dakov, 1984)

var. *grandulifera* with more or less glandular fibrous stems and leaves. It occurs in the area of Somovit (Todorov, 1977).

The natural deposits in Bulgaria are located along the Danube and Yantra rivers. It is often found in Svishtovsk, Nikopol and Somovit. The species is represented by two varieties var. *glabra* and var. *grandulifera* (Kuzmanov, 1976). Of the two common varieties, the more common is var. *grandulifera*, and in the compact areas a mixture of both varieties is observed (photo 2).

*G. glabra* is a moisture-loving plant and in its natural habitats it grows along rivers, along the banks of irrigation canals and reservoirs. It grows successfully on saline soils unsuitable for other agricultural crops. Thanks to its ability to develop a powerful root system, it is successfully used to strengthen sandy screes.

Due to its biological value, *G. glabra* is a "priority species" category and is protected by the Law on Biodiversity and is included in the "threatened" category of the Red Book of Bulgaria and its localities are a protected area of Natura 2000. Most of the natural habitats of the plant are fenced areas, but since the herb has invaluable qualities, the laws are not respected, which is the reason for its annual decrease. This requires paying more attention and taking measures for its protection.



Photo 2 Glycyrrhiza glabra L. from the botanical garden at the Agricultural University in the city of Plovdiv

The species contains 6–12% glycyrrhizin, which is responsible for the sweet taste of the root and its medicinal effect. Glycyrrhizin is about 50 times sweeter than sugar. It is the calcium-potassium salt of glycyrrhizic acid, which belongs to the group of triterpene saponins (Saxena, 2005). In addition to glycyrrhizin, various flavonoids have been found in the drug, of which the flavanone liquiricigenin and the chalcone isoliquiricigenin are biologically active. The roots also contain hydroxycoumarins - umbelliferone, herniarin and licumarin. Also glucose, sucrose, mannitol, starch (25–30%), essential oil, asparagine, sterols (p-sitosterol), etc., and in the aerial parts – a large amount of crude protein (up to 14.3%), fat (up to 7 %) and carbohydrates. They are used for feeding large animals due to the large amount of tanning substances.

In the pharmaceutical industry, *G. glabra* is used for medicinal purposes. Preparations prepared from the roots are successfully used for inflammation of the respiratory tract, inflammation and stones in the kidneys, gastritis, rheumatism and ulcer disease (Kitanov, 1987). It has a very pronounced hormonal effect in both sexes.

Treats inflammations resulting from viral and parasitic infections. Stimulates the release of interferon. Cleanses the colon, weakens muscle spasms, liquefies mucus in the lungs and bronchi, stimulates the functions of the adrenal glands. It has an estrogenic and progesterone-like effect. It is useful for allergies, asthma, chronic fatigue, depression, emphysema, high fever, herpes virus infection, hypoglycemia, intestinal inflammation and upper respiratory tract infections. Deglycyllated *G. glabra* stimulates the natural defense mechanisms that prevent ulcers by increasing the number of mucus-secreting cells in the digestive tract.

The action of *G. glabra* has been studied pharmacologically and clinically. Without changing the acidity of the gastric juice, it facilitates the healing of the injured mucosa, prolongs the life of intestinal cells and microcirculation in the digestive tract. After the anti-ulcer effect of the roots was established, the plant was also used in ulcer disease (a deglycyrrhizinated extract of the roots, containing a flavonoid mixture, is included in some anti-ulcer preparations).

Licorice contains components that, in case of an overdose, can cause unwanted reactions in the body. The literature indicates that the daily dose of the herb varies from 100 to 150 g, therefore it should be taken with caution and under medical supervision (Shibata, 2000).

Its application in the food industry is in the production of sweets and beer. It is used to improve the taste in soft drinks.

In the cosmetics industry, it is most widely used in the production of creams with an antioxidant effect.

The largest exporter of *G. glabra* is Turkey, followed by Afghanistan, Iran, Pakistan and Russia. In Europe, France ranks first in production, exporting approximately six million kilograms of roots in 1996 (Lange, 1998).

The species is propagated by seeds. From the study carried out on the germination of the species, it was found that the seeds have low germination. Due to a decrease in their number in the localities, it is necessary to look for alternative methods for accelerated reproduction and preservation of the species.

The advantages of the in vitro method is the conservation of the species for a longer period of time and the possibility, if necessary, of extremely fast reproduction. Various techniques have been investigated for slow growth and reduction of intercultural subculture leading to genetic stability in order to maximize the preservation of the species (Krasteva et. al, 2012). The scientific activity for the species is aimed at vegetative reproduction, preservation of the species *G. glabra*.

The main indicator in microvegetative propagation is the composition of the nutrient medium, which usually contains 5 groups of compounds - inorganic, organic, a source of carbohydrates, vitamins and growth regulators. The most important differences in the composition of the nutrient media are the levels of mineral salts. In this respect, they can be grouped into 3 types of food environments: rich, poor and intermediate. Specific are the requirements of individual plant species and varieties in relation to food environments (Murashige et. al. 1962).

Quorin & Lepoivre (1977) determined the influence of the mineral composition in the nutrient medium on the growth characteristics of the microplants - stem height, number of leaves formed and induced root system, in vitro cultivation of *G. glabra*.

When introduced in controlled conditions, cuttings from the plant taken in May are used. It is started by dividing the shoots into segments with a length of 1.0 – 3.0 cm (explants have one axillary or apical bud) of one-year shoots during the period of active vegetation of the plants. Clean explants were obtained at 3 min in 0.3% HgCL<sub>2</sub> solution (photo 3).

The storage and maintenance of in vitro collections of vegetatively propagated cultures is a complex and difficult process. The research work is aimed at studying the influence of multiple factors on the development of cultivated and wild species in controlled conditions with a view to optimizing the possibilities for rapid reproduction, continuous long-term storage and maintenance of collections of vegetatively propagated species (Sawaengsak et.al, 2011).



Photo 3 Resulting sterile culture grown under controlled conditions

To determine the content of glycyrrhizin in dry roots of *Glycyrrhiza glabra* L., the HPLC analysis method with a photodiode was used. The authors Verna et al. (2003) found 0.09% glyceryl content. The present study includes plant materials of the species *Glycyrrhiza glabra* L. originating from the botanical garden of the Agricultural University - Plovdiv and from the land of the village of Dolni Vit, region Pleven. used to perform gas chromatographic analysis. The applied methodology is Berkov S. et. al. (2005).

From the research carried out, 59 substances were found, of which 46 were identified. The polar fraction contains mainly disaccharides (88.7%), amino acids (5.4%), organic acids (1.7%), free phenolic acids (1.1%), sterols, etc (photo 3). Of the identified metabolites in the polar fraction, syringic, hydroxycinnamic and 4-hydroxybenzoic acids are carriers of biological action - antioxidant. The apolar fraction mainly contains lipid substances such as free fatty acids (59%), glycerides (30%), hydrocarbons, saturated and unsaturated carboxylic acids and their esters (linolenic, palmitic, stearic acid) and phytosterols (6.3%). Fatty acids and phytosterols are involved in the construction of cell walls, and surface lipids – in the defense mechanisms of plants. Antitumor activity has been established for a number of phytosterols. Of the 46 compounds identified, the most important for human health are phenolic acids - 4- Hydroxybenzoic acid, Hydrocinnamic acid and Syringic acid, amino acids - L-Alanine 3TMS, L-Alanine 2TMS, L- Proline, L- Serine, L- Homoserine , 5 Oxo-proline, L- Norvaline, L- Phenylalanine, Asparagine and essential amino acids – L-Valine, L- Isoleucine, L- Threonine

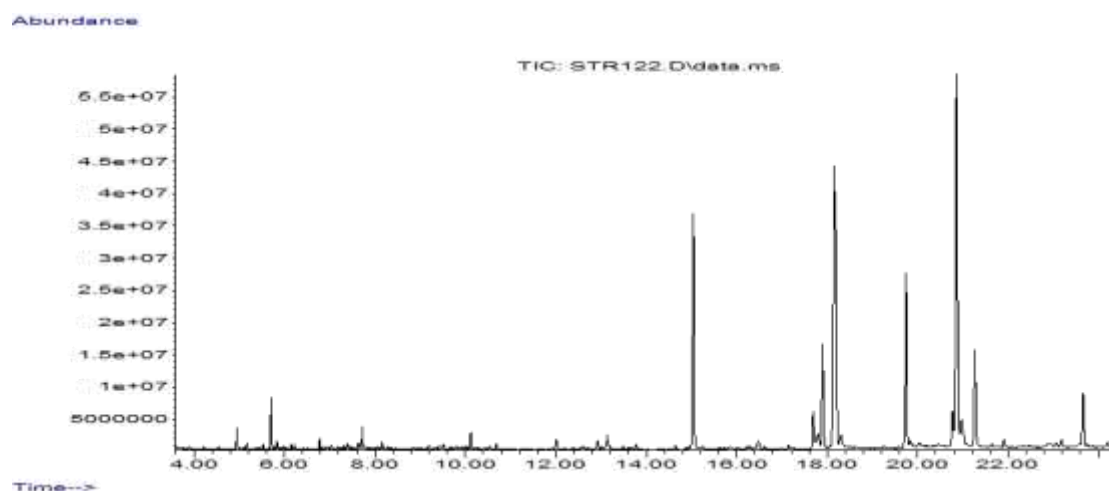


Photo 3 Glycyrrhiza glabra polar fraction

Bulgarian agriculture has the potential to develop in the future, but this development must be in line with the requirements of the legislation - aimed at increasing the quality of *G. glabra* roots offered on the market, as well as with the continuation of financial support for the relevant sectors.

### Literature

- Berkov S., Pavlov A., Ilieva M., Burrus M., Popov S. and Stanilova M. (2005). GC/MS of alkaloids in *Leucosium aestivum* plants and their in vitro cultures. *Phytochem. Anal.* 16,98-103
- Dakov M. (1984), *The Red Data Book of the Peoples Republic of Bulgaria*, vol 1;193, 260, 319
- Jeo P. F. (1968), In: *Flora Europea- Glycyrrhiza L.*, 127-128
- Kitanov B., (1987), *Identification and collection of herbs*, Zemizdat, Sofia
- Krasteva L, Uzundzhaliyeva K, Ruseva R. (2012), *Plant Genetic Resources as a part of the biodiversity. Agro-knowledge*
- Krusheva R., R. Parvanov (1978), *Album of protected rare plants*, Zemizdat, 27
- Kuzmanov B. (1976), In *flora of NRB*, vol.II, BAS, Sofia, 185-186
- Lange D. (1998), *Europe's medicinal and aromatic plants: their use, trade and conservation*. TRAFFIC International, Cambridg
- Murashige T, Skoog F. (1962), A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.*, 15:473-497.
- Quorin, M., Lepoivre, P. (1977), Improved media for in vitro culture of *Prunus* sp. *Acta Hortic.* 78, 437-442.



Shibata S. (2000), A drug over the millennia: pharmacognosy, chemistry, and pharmacology of licorice. *Yakugaku Zasshi*, 849-862

Sawaengsak W, Saisavoey T, Chuntaratin P, Karnchanatat A. (2011), Micropropagation of the medicinal herb *Glycyrrhiza glabra* L., through shoot tip explant culture and glycyrrhizin detection. *Intern. Research J. Plant Science*, 2(5):129-136.

Saxena S. (2005), *Glycyrrhiza glabra*: Medicine over the millennium. *Nat. Prod. Radiance*, 4(5): 358-367.

Todorov T., (1977), A rare plant - *Forestry* 7, 15-33

Verna R. K., R. Randey, S.Tandon, A. K. Kukreja, M. M. Gypta (2003), Quantitation of glycyrrhizic acid using chromatography with photo diode ray detection, *Journal of Medicinal and Aromatic plant Sciences*

## ANTIOXIDANTS TO IMPROVE THE OXIDATIVE STABILITY OF FISH OIL

*Esra SOLAK<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Mrs, Gaziantep University, Engineering Faculty, Food Engineering, Gaziantep, Turkey.

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0476-852X>

*Hasene KESKİN ÇAVDAR<sup>2</sup>*

<sup>2</sup>Asst. Prof. Dr, Gaziantep University, Engineering Faculty, Food Engineering, Gaziantep, Turkey.

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5230-5904>

*Sibel FADİLOĞLU<sup>3</sup>*

<sup>3</sup>Prof. Dr, Gaziantep University, Engineering Faculty, Food Engineering, Gaziantep, Turkey.

<sup>3</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7963-111X>

### ABSTRACT

In recent years, omega-3 and omega-6 fatty acids have become more popular due to their importance in human nutrition. It is known that taking n-3 fatty acids as a food supplement reduces the risks of cancer and cardiovascular diseases. They also reduce the risks of depression and Alzheimer's, strengthen memory, and reduce the symptoms of schizophrenia. Fish oil is the only source of the omega-3 fatty acids eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA). However, polyunsaturated fatty acids (PUFA) are easily oxidized and cause unpleasant tastes and odors. It also reduces the nutritional quality and safety of lipid-containing foods. Therefore, oxidative degradation of PUFA is a serious problem in many food industry sectors. Due to the increasing awareness of the importance of PUFAs on our health, antioxidants are shown as improved strategies for effective control methods against lipid oxidation, especially PUFA oxidation. Antioxidants are 'any substance that delays, prevents or eliminates oxidative damage in a target molecule'. Raw fish oils contain antioxidants such as natural tocopherols, carotenoids, amino acids and peptides. However, the amounts of natural antioxidants in it usually do not provide adequate protection during long-term storage. To improve the oxidative stability of fish oil, antioxidants such as organic acids and radical reducers can be added to the raw material before the oil is extracted. There are many antioxidants, both synthetic and natural. Many studies have used these antioxidants to protect fish oil against oxidation. This work provides an updated overview of the to fish oil protection by using natural and synthetic antioxidants.

**Keywords:** Fish oil; oxidative stability, natural antioxidants.

### 1. INTRODUCTION

In recent years, the importance of nutrition for healthy development, functioning, and disease prevention of the human body has become a more prominent issue. People nowadays, particularly in developed countries, pay close attention to their nutrition and take care to include health-promoting foods in their diets. Fish and other aquatic products, which are high in polyunsaturated fatty acids, rank first among these foods.

Fish oils produced in subsequent years preserved their structures better, and the positive effects of fish oils produced in recent years on human health increased interest in fish lipids. Fish oil contains 20% saturated fatty acids and 80% unsaturated fatty acids. The majority of these unsaturated fatty acids are polyunsaturated fatty acids. Fish oils are the only source of the ( $\omega$ )-3 group fatty acids EPA and DHA (Varlık et al., 2004). The significance of unsaturated fatty acids in nutrition becomes clear at this point. Polyunsaturated fatty acids are liquid at room temperature and are essential for human survival. As a result, they are referred to as essential fatty acids and are classified as omega ( $\omega$ )-6 and omega ( $\omega$ )-3 fatty acids. Since the importance of ( $\omega$ )-3 fatty acids in terms of healthy nutrition is well known, it is

necessary to consume foods and food supplements rich in eicosapentanoic (EPA) and decasohexanoic (DHA) (Lands, 1992). Fish oils are more nutritious than those derived from terrestrial animals.

Because of its beneficial effects on human health and high nutritional value, the quality and stability of fish oil are becoming increasingly important. Fish oil is highly susceptible to oxidative degradation, which results in undesirable odor, flavor, and color. The degree of unsaturation increases the susceptibility of fatty acids to oxidation. Polyunsaturated fatty acid oxidation occurs in three stages: initiation, propagation, and termination. Molecular oxygen first reacts with polyunsaturated fatty acids to form peroxide and free radicals. The initial stage's reactive products combine with other lipid molecules to form other reactive compounds. Peroxides are also unstable in active methylene groups, converting to dihydroperoxides and secondary oxidation products. Unsaturated aldehydes and ketones undergo additional autooxidation, forming volatile compounds that emit offensive odors (Hsieh and Kinsella, 1989; Kanner and Rosenthal, 1992; Yanishlieva and Marinova, 2001; Kolanowski et al., 2007). While synthetic antioxidants such as butylated hydroxytoluene (BHT), butylated hydroxyanisole (BHA), and propyl gallate (PG) are used to prevent oxidation, there is an increasing tendency toward the use of natural antioxidants.

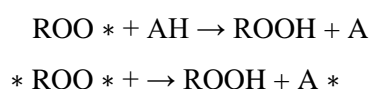
## 2. ANTIOXIDANTS

An antioxidant is a substance that, in relatively low concentrations, significantly slows the reaction rate with oxygen. Information about this phenomenon is especially important for fish oil, whose fatty acids are generally highly unsaturated and thus unusually susceptible to attack by oxygen in the air (Stansby 1967). Antioxidants are substances that either interfere with the initiation or early stages of the propagation steps. An antioxidant reacts with either the original free radical or one formed early in the chain to produce an intermediate that is incapable of continuing the chain.

Antioxidants are used to stop undesirable changes in lipids. Butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene, gallates (propyl, octyl, and dodecyl), and tert-butylhydroquinone (TBHQ) are examples of synthetic antioxidants that may be harmful to human health. Because of this, TBHQ has been outlawed in Japan and other European nations, and BHA and BHT have been linked to possible carcinogenic consequences (Roby et al., 2013).

Omega-3 fatty acids may be counteracted by the presence of synthetic antioxidants in fish oil. Hence, natural antioxidants have gained considerable attention, as their application is advantageous (Oancea & Grosu, 2013; Santos, 2014). When preventing a product from oxidation, natural additives may increase its health-promoting value by adding extra components, such as polyphenols, which are renowned for their health-promoting benefits in the body (Embuscado, 2015). Spices and herbs have antibacterial, antifungal, anti-inflammatory, and anti-mutagenic properties in addition to antioxidant properties. They may inhibit the growth of undesirable microorganisms in food and/or halt the production of toxic substances such as heterocyclic amines (Embuscado, 2015). Herbs and spices are Generally Recognized as Safe (GRAS) and are regarded as healthy dietary components that can be included in daily diets (Kapadiya et al., 2016).

Consumers tend to favor natural foodstuffs without synthetic additions. It is feasible to perceive a product as free of artificial additives and to label it as such, thanks to the natural antioxidants from herbs and spices that are used to prolong the shelf life of foods. So-called clean-label items have gained popularity recently (Embuscado, 2015). The crucial vitamins C (ascorbic acid) and E (tocopherols), provitamin A (carotenoids), and polyphenols are among the many antioxidants found in plants (Tounekti & MunnéBosch, 2012). The main ways that these antioxidants work is by snatching free radicals, chelating metals (which catalyze oxidation), and interacting with a single oxygen atom (Embuscado, 2015). According to Fujimoto and Masuda (2012), the reaction between antioxidants (AH) and free radical scavengers (ROO \*) results in a nonradical product:



## 2. USE OF NATURAL ANTIOXIDANTS TO PREVENT THE OXIDATIVE DETERIORATION OF FISH OIL

Commercial fruit and vegetable byproducts are gaining prominence as a source of natural antioxidants. Pazos et al. (2008) employed hydroxytyrosol, a natural phenolic molecule derived as a by-product of olive oil production to stabilize cod liver oil. The antioxidative impact of hydroxytyrosol in cod liver oil increased as its concentration increased during storage at 40°C, although it showed a lower quality than that of propyl gallate. Similarly, Mahdavianmehr et al., (2016) discovered that larger doses of hydroxytyrosol in fish oil were more efficient than lower levels in inhibiting lipid oxidation. In the course of that investigation, it was also found that the activity of hydroxytyrosol is temperature dependent (the results were superior when the temperature was decreased). Mahdavianmehr et al. (2016) investigated the mechanisms underlying the antioxidant activity of hydroxytyrosol in various lipid systems.

Grape seeds, in particular, are an excellent source of natural antioxidants and are a by-product that is readily available. Grape seeds contain around 60–70% of all of the polyphenolic components that are found in grapes. Ethanol extracts from grape and black raspberry seed meal, a grape oil byproduct, stabilized fish oil in the Rancimat accelerated oxidation test at 80°C (Luther et al., 2007). Grape pomace extracts reduced fish lipid oxidation under 40°C shaking (Pazos et al., 2005). Even though the various extract fractions were potent antioxidants, they didn't perform any better than propyl gallate. In a separate investigation, it was found that the utilization of saskatoon berry pomace extracts resulted in a reduction in the amount of omega-3 fatty acid oxidation that occurred during the process of Alaska pollock liver oil emulsification, spray drying, and microcapsule storage (Juan et al., 2015).

Plant extracts such as potato peel (Habeebullah, Nielsen, & Jacobsen, 2010), apple peel (Huber & Rupasinghe, 2009; Rupasinghe, Erkan, & Yasmin, 2010), green tea and its omega-3 conjugates (Zhong, Ma, & Shahidi, 2012), rosemary, oregano, and various oriental herbs have also been shown to inhibit lipid oxidation (Kathirvel & Rupasinghe, 2011). In addition to their ability to inhibit lipid oxidation, apple peel polyphenols have cardioprotective and anticancer properties (Knekt et al., 2002; Sun, Chu, Wu, & Liu, 2002). The inclusion of flavonols, anthocyanins, flavon-3-ols, phenolic acids, and dihydrochalcones is linked to apple peel extract's health benefits (Boyer & Liu, 2004). Every year, around 2-3 thousand metric tonnes of apple peel are lost at apple processing plants in Canada (Huber & Rupasinghe, 2009). Recent research has found that apple peel contains approximately 80% polyphenols (Leccese, Bartolini, & Viti, 2009). Furthermore, apple peel has a five- to six-fold higher total antioxidant capacity than apple flesh and a six- to seven-fold higher total flavonol content than apple pomace (Rupasinghe & Kean, 2008). Apple peel extracts were found to be antioxidants in fish oil during rapid oxidation with shaking at 50°C as well as in the Rancimat test and during oxidation caused by heat, UV radiation, and the superoxide radical (Rupasinghe et al., 2010). When extracts were used, the antioxidant action was enhanced.

Nonetheless, herb extracts are increasingly used as a stabilizing agent for fish oil. Clove extract and eugenol acetate in cod liver oil had an antioxidant effect similar to that of -tocopherols (Lee & Shibamoto, 2001). Several studies have found that the oxidative stability of microencapsulated fish oil can be increased by adding ginger essential oil or oregano extract (Annamalai et al., 2015). Bhale et al. (2007) discovered that methanol extracts of rosemary and oregano reduced the breakdown of omega-3 acids in fish oil during accelerated oxidation. At low temperatures (e.g., 60°C), rosemary extracts efficiently protected EPA and DHA. However, at high temperatures (e.g., 150°C), oregano extracts were superior, with the impact rising with increasing concentration in the oil. Similar results in cownose ray (*Rhinoptera bonasus*) liver oil stabilization were reported by Navarro-García et al. (2017): the rosemary extract (0.25% wt/wt) proved effective in protecting EPA and DHA from degradation and inhibited oxidation product. Similar outcomes in the stabilization of cownose ray (*Rhinoptera bonasus*) liver oil were reported by Navarro-García et al. (2017). The rosemary extract (0.25% wt/wt) showed promise in preventing the breakdown of EPA and DHA and reduced the production of oxidation products in the Schaal test. Compared to tocopherols, caffeic acid, and synthetic tert-butylhydroquinone, it was a more effective antioxidant (TBHQ). Due to the instability of carnosol and carnosol acid, a different study (Frankel et al., 1996) found that rosemary extracts applied to fish oil during accelerated oxidation at 40°C were more efficient than those chemicals (Zhang et al., 2012).

### 3. CONCLUSION

According to the findings, natural antioxidants had the best impact in halting the oxidation of unstable fish lipids. Recent researches identified limited efficient antioxidants for fish oils, and there are currently relatively few natural antioxidants that have been approved for use. It is, therefore, necessary to do the additional studies that will enable the discovery of fresh, natural sources of antioxidants. Natural plant antioxidants have a great deal of potential to increase the shelf life of fish oil. Current demands and consumer preferences are considered in studies on discovering new sources of natural antioxidants and techniques for improving their quality and closing legal loopholes by creating reasonable laws. As human health is the most valuable resource, it is vital to look for new natural antioxidant sources and improve existing ones.

### 4. REFERENCES

- Annamalai, J., Dushyant, K., & Gudipati, V. (2015). Oxidative stability of microencapsulated fish oil during refrigerated storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 1944–1955.
- Bhale, S. D., Xu, Z., Prinyawiwatkul, W., King, J. M., & Godber, J. S. (2007). Oregano and rosemary extracts inhibit oxidation of long-chain-3 fatty acids in menhaden oil. *Journal of Food Science*, 72(9), 504-508.
- Boyer, J., & Liu, R. H. (2004). Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutrition Journal*, 3, 5
- Embuscdo, M. E. (2015). Spices and herbs: Natural sources of antioxidants –A mini review. *Journal of Functional Foods*, 18, 811–819.
- Frankel E N, Huang S-W, Aeschbach R, Prior E. (1996). Anti-oxidant activity of a rosemary extract and its constituents, carnosic acid, carnosol and rosmarinic acid in bulk oil and oil-in-water emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 131-135.
- Fujimoto, A., & Masuda, T. (2012). Antioxidation mechanism of rosmarinic acid, identification of an unstable quinone derivative by the addition of odourless thiol. *Food Chemistry*, 132, 901-906
- Habeebullah, S. F. K., Nielsen, N. S., & Jacobsen, C. (2010). Antioxidant activity of potato peel extracts in a fish-rapeseed oil mixture and in oil-in-water emulsions. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87, 1319–1332
- Hsieh, R.J., Kinsella, J.E. (1989). Oxidation of polyunsaturated fatty acids: mechanisms, products. *Adv Food Nutr Res*, 33, 233-341.
- Huber, G. M., Rupasinghe, H. P. V., & Shahidi, F. (2009). Inhibition of oxidation of omega-3 polyunsaturated fatty acids and fish oil by quercetin glycosides. *Food Chemistry*, 117(2), 290–295.
- Juan, L. Kevin, M. S. Luis, A. Jie, Z. Arranee, C. Jose, L. B. D. Alexander, C. David, B. Peter, J. B., & Subramaniam, S. (2015). Effect of blueberry extract from blueberry pomace on the microencapsulated fish oil. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(2), 199–206.
- Kanner, J., Rosenthal, I. (1992). An assessment of lipid oxidation in foods. *Pure and Applied Chemistry*, 64(12): 1959-1964
- Kapadiya, D. B., Dabhi, B. K., & Aparnathi, K. D. (2016). Spices and herbs as a source of natural antioxidants for food review article. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5(7), 280–288
- Kathirvel, P. & Rupasinghe, H. P. V. (2011). Plant-derived antioxidants as potential omega-3 PUFA stabilizers. In M. V. Dijk & J. Vitek (Eds.), *Fish oil: Production, consumption and health benefits*, 158–185.
- Knekt, P., Kumpulainen, J., Jarvinen, R., Rissanen, H., Heliövaara, M., Reunanen, A., et al. (2002). Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *American Journal of Clinical Nutrition*, 76, 560–568
- Kolanowski, W., Jaworska, D., Weissbrodt, J. (2007). Importance of instrumental and sensory analysis in the assessment of oxidative deterioration of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acid-rich foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87: 181-191.

- Lands, W. E. (1992). Biochemistry and physiology of n-3 fatty acids. *The FASEB journal*, 6(8), 2530-2536.
- Leccese, A., Bartolini, S., & Viti, R. (2009). Antioxidant properties of peel and flesh in 'GoldRush' and 'Fiorina' scab-resistant apple (*Malus domestica*) cultivars. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 37, 71–78
- Lee, K.- G., & Shibamoto, T. (2001). Antioxidant property of aroma ex-tract isolated from clove buds [*Syzygium aromaticum* (L.). Merr. Et Perry]. *Food Chemistry*, 74(4), 443–448.
- Luther, M. Parry, J. Moore, J. Meng, J. Zhang, Y. Cheng, Z. & Yu, L. (2007). Inhibitory effect of Chardonnay and black raspberry seed extracts on lipid oxidation in fish oil and their radical scavenging and antimicrobial properties. *Food Chemistry*, 104(3), 1065–1073.
- Mahdavianmehr, H. Farhoosh, R. & Sharif, A. (2016). Mechanism of the inhibitory effect of hydroxytyrosol on lipid oxidation in different bulk oil systems. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 93, 1233–1242.
- Navarro-García, G., Gámez-Meza, N., Medina-Juárez, L. A., Ortega- García, J., Cota- Quiñones, E., & Ramirez-Suarez, J. C. (2017). Natural antioxidants in the stability of ray liver oil. *Ciência Rural*, 47(1), 1-7.
- Oancea, S., & Grosu, C. (2013). Effect of *Vaccinium myrtillus* anthocyanin extract on lipid oxidation in cod liver oil. *Romanian Biotechnological Letters*, 18(1), 7897–790
- Pazos, M., Gallardo, J. M., Torres, J. L., & Medina, I. (2005). Activity of grape polyphenols as inhibitors of the oxidation of fish lipids and frozen fish muscle. *Food Chemistry*, 92(3) 547-557.
- Pazos, M. Alonso, A. Sánchez, I. & Medina, I. (2008). Hydroxytyrosol prevents oxidative deterioration in foodstuffs rich in fish lipids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(9), 3334–3340. 403s
- Rupasinghe, H. P. V., & Kean, C. (2008). Polyphenol concentrations in apple processing by-products determined using electrospray ionization mass spectrometry. *Canadian Journal of Plant Science*, 88, 759–762.
- Rupasinghe, H. P. V., Erkan, N., & Yasmin, A. (2010). Antioxidant protection of eicosapentaenoic acid and fish oil oxidation by polyphenolic-enriched apple skin extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 1233–1239.
- Roby, H. M. H., Sarhan, A. M., Selim, K.-A.-H. & Khalel, K. I. (2013). Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. *Industrial Crops and Products*, 43, 827–831.
- Stansby, M. E. (1967). *Fish Oils: Their Chemistry, Technology, Stability, Nutritional Properties, and Uses*. M. E. Stansby (Ed.). Avi Publishing Company.
- Santos, R. D. Shetty, K. & Miglioranza, L. H. S. (2014). Oxidative stability of butter with added phenolics from Lamiaceae herbs and in vitro evaluation of potential cytotoxicity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract. *International Journal of Food Science and Technology*, 49(3), 768–775.
- Sun, J., Chu, Y. F., Wu, X., & Liu, R. H. (2002). Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 7449–7454
- Tounekti, T., & Munné-Bosch, S. (2012). Enhanced phenolic diterpenes an-tioxidant levels through non-transgenic approaches. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 31(6), 505– 519
- Turan, H. Kaya, Y. Sönmez, G. (2006). Balık Etinin Besin Değeri ve İnsan Sağlığındaki Yeri E.Ü. Su Ürünleri Dergisi 2006 E.U. *Journal of Fisheries & Aquatic Sciences* 2006 Cilt/Volume 23, Ek/Suppl. (1/3), s.505-508.
- Varlık, C. Erkan, N. Özden, Ö. Mol, S. Baygar, T. (2004). Su Ürünleri İşleme Teknolojisi. İst. Üniv.Yayın No: 4465, İstanbul, 491s.

Yanishlieva, N.V., Marinova, E.M. (2001). Stabilisation of edible oils with natural antioxidants. *Eur J Lipid Sci Technol*, 103: 752-767.

Zhang, Y., Smuts, J., Dodbiba, E., Rangarajan, R., Lang, J. C., & Armstrong, D. W. (2012). Degradation study of carnosic acid, carnosol, rosmarinic acid and rosemary extract (*Rosmarinus officinalis* L.) assessed using HPLC. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(36), 9305–931

Zhong, Y., Ma, C. M., & Shahidi, F. (2012). Antioxidant and antiviral activities of lipophilic epigallocatechin gallate (EGCG) derivatives. *Journal of Functional Foods*, 4, 87–93.

**SUPPLEMENTATION OF MANGO (*MANGIFERA INDICA*) AS A NUTRACEUTICAL  
PRODUCT IN THE DIET OF POULTRY**

***Muhammad Waqas*<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>*Ondokuz Mayıs University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Animal Nutrition and Nutritional Diseases, Samsun, Türkiye*

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9972-8426>

***Mustafa Salman*<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Ondokuz Mayıs University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Animal Nutrition and Nutritional Diseases, Samsun, Türkiye*

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0828-5998>

**ABSTRACT**

Animal products such as eggs, milk and meat are high in bioactive compounds, providing human health benefits. Growing food consumer awareness and increased global meat producer competition put pressure on meat producers to develop new healthier and antibiotic-free meat products, as antibiotics, and other synthetic chemicals are harmful to the body's physiological functions as well as microbial resistance against them. Many countries have limited the use of antibiotics as growth promoters and encouraged the development of antibiotic alternatives in human and animals. Poultry producers use a variety of supplements with functional properties in the poultry diets as feed additives to improve growth performance and meat quality of birds, resultantly their positive effects on consumer health. Minerals, vitamins, phytochemicals, dietary fibers, probiotics and prebiotics, organic acids, and bioactive peptides are all commonly used supplements. Mangoes include a variety of polyphenolic, vitamin, and mineral elements in their fruit, seeds, leaves, bark, and roots. Mangiferin, gallic acid, gallotannins, quercetin, isoquercetin, ellagic acid, and glucogallin are specific polyphenols found in mango and have particular health benefits. The most abundant bioactive polyphenolic (xanthone) compound in the mango is mangiferin that has the potential to treat lifestyle-related diseases. It has several health benefits, including antioxidant, antimicrobial, antidiabetic, antiallergic, anticancer, hypocholesterolemic, and immunomodulatory. Much research has been conducted on rats to investigate the potential health benefits of mango constituents. Data on the use of mangiferin and other mango's constituents in poultry diets to explore their effects on body weight gain, antioxidant status, caecal microbial population, immune indices, egg quality, as well as meat quality and blood profiles, is limited. So, in this review, the use of mango, its byproducts and extracts in the diet of poultry and their subsequent effects on growth performance, immune system, antioxidant status, meat quality, gut microbiota and serum biochemistry, egg production and egg quality will be discussed.

**Keywords:** Antioxidant, growth, health, immunity, mango, meat quality, poultry

**Introduction**

The overuse of antibiotics in intensive livestock production has led to the emergence of antimicrobial resistance, which poses a significant threat to sustainable food production and public health (WHO, 2015). A practical solution to this issue is reducing or eliminating antibiotic use in livestock (O'Neill, 2015), however, this can result in decreased productivity, increased morbidity, and mortality (Smith, 2011), making research into alternative antibiotics crucial. Besides this, commercial farming practices can lead to oxidative stress in broilers, negatively impacting their health, welfare, productivity, and product quality (Mishra & Jha, 2019), but supplementation of dietary antioxidants can prevent this oxidative stress and low production (Park et al., 2015). Synthetic antioxidants are potent but have been linked to health risks in humans, necessitating the exploration of suitable alternatives (Du et al., 2019). Studies have shown that medicinal plants can serve as a potential substitute for synthetic additives in



chickens, exhibiting positive impacts on the immune system, gut microbiota, and antioxidant status (Zhang et al., 2017; Adu et al., 2020). Looking ahead, the world must produce 60-70% more meat and milk to feed an additional 2.4 billion people by 2050, with much of this increase expected to occur in developing countries. Food security and reduced environmental impact of food production are necessary, as approximately one-third of global food production, equivalent to 1.3 billion tonnes per year, is currently lost or wasted (FAO, 2011). Addressing this issue through waste reduction and recycling can enhance food security, decrease the environmental footprint of food production, lower waste management costs, and even create new products such as animal feed (Wadhwa et al., 2015). Exploration of innovative, non-competing feed resources and their effective utilization is critical in meeting the growing demand for the animal feed industry and the sustainable development of the livestock industry. Fruit and vegetable waste, generated in significant quantities by the organized food processing industry, poses environmental risks when discarded in landfills or rivers. (Wadhwa and Bakshi, 2013). However, this waste can be recycled and repurposed as animal feed, potentially lowering feeding costs and increasing profits for livestock farmers (Wadhwa et al., 2015).

Mango is a vital fruit in tropical and subtropical regions (Tharanathan et al., 2006). It is a widely consumed fruit that can be enjoyed fresh or processed into various products, such as frozen, canned, concentrated, and dried products (Siddiq et al., 2012). The fruit is rich in flavor and has high nutritional value. Depending on the mango variety and weight, the flesh can constitute 33-85%, the peel 7-24%, and the seed 9-40% (w/w). The agro-industrial processing of mango generates 35-60% (w/w) of waste (Wall-Medrano et al., 2020; Jahurul et al., 2015). The extraction and recovery of bioactive compounds from mango peels and seeds could help manage waste while creating substances with various applications in the food, pharmaceutical, cosmetic, and other industries (García-Mahecha et al., 2023). Phytochemicals (phenolic, polyphenol, pigments, and volatile constituents) present in the bark, leaf, seed, and peel of mango have been found to provide various medicinal properties such as antimicrobial, anti-inflammatory, and antioxidant effects (Okwu & Ezenagu, 2008; Luo et al., 2012). Previous research has explored the potential benefits of using mango peel and seed extract (Freitas et al., 2012) and mango leaf extract (Zhang et al., 2017) as additives for broilers, laying hens, and other poultry. This review aims to evaluate the impact of dietary supplementation with mango byproducts and their extracts/phytochemicals on growth, immunity, caecal microbial population, blood chemistry, muscle antioxidant status, meat quality, egg production, and egg quality in poultry.

#### **Mango production and characteristics of mango:**

The *Anacardiaceae* family encompasses the genus *Mangifera*, which comprises roughly 69 species, with *M. indica* being the most prevalent (Slippers et al., 2005). This genus typically flowers between January and April, and the flowers are fragrant (Ediriweera et al., 2017). Mango cultivation is prevalent in countries such as Pakistan, China, Thailand, India, Brazil, Nigeria, Mexico, and the Philippines (Saúco, 2002). Mango fruit is consumed ripe or unripe in various forms such as pickles, juice, oils, nectar, powder, sauce, cereal flakes, and jam (Siddiq et al., 2012). Mango is the third most important tropical fruit crop after bananas and plantains, with an estimated production of 39 million tonnes in 2010 (Jedele et al., 2003; FAO, 2011). Mango seed constitutes 20 to 60% of the whole fruit, with the kernel comprising 45 to 75% of the seed, resulting in approximately 4 to 18 million tonnes of mango kernel available annually (Maisuthisakul and Gordon, 2009). After pulp extraction, the remaining waste, which constitutes 45% of the processed mango, is called mango waste and includes cull fruits, mango kernel meal (which contains 6-16% oil on a dry matter basis), deoiled mango kernel meal, and mango peels (Ajila et al., 2012; Wadhwa et al., 2015). Exploring the utilization of mango kernel meal in poultry feed can be economically beneficial due to its abundance and limited by-product usage in many regions (Diarra, 2014). Mango fruit peel and flesh are a rich source of fiber, vitamins A and C, essential amino acids, and polyphenols, while mango seed is also reported to be a rich source of polyphenols (Ignat et al., 2011). These polyphenols include flavonoids, xanthenes, and phenolic acids, among others (Berardini et al., 2005). Major polyphenolic compounds found in mango include mangiferin, gallic acid, catechins, quercetin, kaempferol, protocatechuic acid, ellagic acids, propyl and methyl gallate, rhamnetin, and anthocyanins (Nayan et al., 2018). Mangiferin a glucosyl xanthone is a polyphenolic compound that has been extensively studied for its diverse biological properties (ICHIKI et al., 1998). Mangiferin exhibits a broad range of pharmacological properties, including anticancer, antimicrobial,

anti-atherosclerotic, antiallergenic, anti-inflammatory, analgesic, and immunomodulatory effects (Imran et al., 2017). The quantity of different polyphenols in mango varies depending on the fruit part and variety (Ma et al., 2011). Although there is ample evidence in the literature on the pharmacological and ethnomedicinal uses of mango in humans, there is no comprehensive review of the mango by-products, phytochemicals, their biological effects, and the pharmacological effects of mango in poultry birds. Therefore, this review aims to provide an up-to-date and comprehensive assessment of the effects of mango byproducts and phytochemicals in poultry birds. Table 1 shows the nutritive and phytochemical composition of mango pulp, peel, and seed kernel.

Table 1. The nutritive and phytochemical composition of different parts of mango (Per 100g basis)

<b>Nutritive composition</b>			
<b>Nutrients</b>	<b>Pulp</b>	<b>Peel</b>	<b>Seed Kernel</b>
Water	78.9-82.8	72.5	9.1
Carbohydrate (g)	16.20-17.18	28.2	18.2
Protein (g)	0.36-0.40	3.6	6.61
Total lipids (fat) (g)	0.30-0.53	2.2	9.4
Sugar, total (g)	---	25	70
Total dietary fiber (g)	0.85-1.06	40-72.5	2.8
Energy (kcal)	62.1-63.7	---	327
<b>Vitamins</b>			
Vitamin C (Ascorbic acid, mg)	7.8-172.0	18-257	17
Vitamin B1 (thiamin) (mg)	0.020-0.073	---	0.08
Vitamin B2 (riboflavin, mg)	0.025-0.068	---	0.13
Vitamin B3 (niacin, mg)	0.025-0.707	---	0.19
Vitamin B5 (Pantothenic acid, mg)	0.119	---	0.12
Vitamin B9 (Folate, µg)	43	---	---
Vitamin B12 (cobalamin, mg)	---	---	0.12
Vitamin A (Retinol, IU)	1082	---	15
Vitamin E (α-tocopherol, mg)	0.9	0.25-0.59	1.3
Vitamin K (phylloquinone, µg)	4.2	---	59
<b>Polyphenolic Compounds</b>			
Cyanidin	0.1	---	---
Catechin	1.7	---	---
Kaempferol	0.1	---	---
Proanthocyanidin dimers (mg)	1.8	---	---
Proanthocyanidin trimers (mg) 1.4	1.4	---	---
Mangiferin	---	169	4.2
Gallic acid	---	---	23.838
Ellagic acid	---	---	3-156
Coumarin	---	---	12.7
Caffeic acid	---	---	7.7
Vanillin	---	---	202
Cinnamic acid	---	---	11.2
Ferrulic acid	---	---	10.4
Quercetin	2.2	6.5	---
Tannins	---	---	20.7
<b>Carotenoids</b>			
β-carotene	640	1310	---
α-carotene	9	---	---
Lycopene	3	---	---
Lutein and zeaxanthin	23	299	---

Sources: Lebaka et al., 2021; Maldonado-Celis et al., 2019; Gopalan et al., 1977

### **Pharmacological effects of mango in humans:**

Mango fruit and leaves are abundant in phytochemical constituents like; xanthonoids, mangiferin, selected anthocyanidins like delphinidin, peonidin, cyanidin, leucoanthocyanins, catechin, gallic, tannins, flavonoids, triterpenoids, and micronutrients, as well as volatile organic molecules such as terpenes, furanone, lactones, and esters, which contribute to its distinct flavor (Dzamic et al., 2010; Okwu and Ezenagu, 2008). Mangiferin, a potent antioxidant, is present in various parts of the mango tree, including the peel, stalks, leaves, barks, kernel, and stone (Dar et al., 2005). It possesses numerous health-related benefits, such as antiviral, anticancer, antidiabetic, antioxidative, anti-aging, immunomodulatory, hepatoprotective, and analgesic effects. Mangiferin extracts have been shown to protect against carbon tetrachloride-induced liver damage and lower hydrogen peroxide-induced lipid peroxidation in human peripheral blood lymphocytes in a dose-dependent manner (Dar et al., 2005; Jagetia and Venkatesha, 2005). Isomangiferin and homomangiferin are also present in different parts of the mango tree and prevent the production of hydroxyl radicals by chelating iron in Fenton-type reactions (Matkowski et al., 2013). Mangiferin has been found to lower cholesterol synthesis, inhibit the expression of tumor necrosis factor  $\alpha$  and inducible nitric oxide synthase, ameliorate insulin resistance, and modulate glucose metabolism, thereby exerting a prohypoglycemic effect (Liu et al., 2011). It also induces apoptosis and inhibits the progression and promotion of cell proliferation by interfering with cell cycle regulation and the signaling of several cancer transduction pathways in tumor cells (Manach et al., 2005).

### **Effects of mango, mango byproducts, and their extracts in the poultry**

#### **Growth performance:**

Research has been carried out to explore the potential impact of mango and its derivatives on the growth performance of birds by adding them to the diet of poultry birds. Orayaga et al. (2015) used four different levels of mango fruit reject meal (MFRM) in the diet of broiler chickens and discovered that final live body weights (BW) and daily weight gains (DWG) were significantly lower at 15% and 20% levels of MFRM compared to 5% and 10% levels. Feed intake did not vary significantly between treatment groups, but the feed conversion ratio (FCR) was considerably lower at 20% MFRM. Emsshaw et al. (2012) employed four different levels of mango fruit waste (MFW) in broilers and found no significant differences in average daily feed intake among all treatment diets. However, the average individual BW of chickens fed with T1(100% maize+0%MFW) and T2 (90%maize+10%MFW) diets was similar but significantly higher than those of T3 (80%maize+20%MFW) and T4(70%maize+30%MFW). Wadhwa et al. (2015) found that the inclusion of raw mango seed kernel meal at 5-10% in the diet decreased feed intake and growth in broiler chicks, while Joseph et al. (1997) recommended using boiled mango seed kernels at <5% during the starter phase and 10-20% during the finisher phase in broiler chicks. Vasantha et al. (2006) observed that the weight gain of broilers was comparable to that of the control when mango seed kernel was used in the diet at 5% in the starter phase and up to 20% in the finisher phase. The lower live-weight gain and feed conversion ratio of birds on the 15% and 20% replacement diets could be attributed to the fact that the tannin content in the mango kernel of these diets may be above the threshold of 0.30% that can be tolerated by chicks (Jansman, 1993). Adeyemi et al. (2021) investigated the effect of mango leaf (ML) supplementation on broiler growth performance using F-1 (basal diet-BD), F-2 (BD + 0.4 g/kg antibiotic + 0.12 g/kg tert-Butylhydroxyanisole, F-3 (BD + 2.5 g/kg ML), and F-4 (BD + 5 g/kg ML) for 42 days. The results revealed that the ML-treated birds exhibited a higher body weight gain (BWG) than the untreated group, while feed intake was higher during the finisher phase and the entire production cycle. However, the feed conversion ratio was not significantly affected by dietary treatments. The improvement in BWG could be attributed to the phytochemicals in ML, which have been reported to have antioxidant properties, maintain the integrity of intestinal mucosa, and enhance feed efficiency and body weight gain (Vidanarachchi et al., 2005). In a similar study, Toson and Yassien (2022) examined the effect of aqueous mango leaf extract (AMLE) on broiler growth performance. Their findings demonstrated that adding 20 mL of AMLE per liter of drinking water significantly increased final body weight, and body weight gain, and improved feed conversion ratio during the grower (3–6 weeks) and whole growing periods (0–6 weeks) when compared to the control group. This suggests that AMLE supplementation enhances the efficiency of broiler chicks in utilizing diets better. The health-promoting qualities of AMLE, which include antibacterial, analgesic, antioxidant, antifungal, and anti-

inflammatory properties, may contribute to this effect (Garrido et al., 2004). Additionally, Zhang et al. (2017) reported that supplementing diets with mango leaf extract improved growth performance and health status in broiler chicks due to better plasma antioxidant and biochemical parameters. Furthermore, Zhang et al. (2017) found that supplementing diets with mango seed (MS) at 0.14% or 0.28% improved broiler growth performance, with higher average daily weight gain and final body weight in MS-supplemented groups compared to the control group. Aka-Tanimo et al. (2020) investigated the effect of mango leaf meal (MLM) at different inclusion levels (2.5%, 5%, 7.5%, and 10%) on broiler growth performance. MLM at the level of 7.5% led to better growth performance with the lowest FCR and daily feed intake without any adverse effect on chicken health.

Amao and Siyanbola (2013) found that replacing maize with a 30% dry heat-treated mango seed Kernel (MSK) resulted in significantly lower feed intake, higher body weight, and better feed conversion compared to the maize-fed control group. A dietary tannin concentration of 0.5% can reduce feed intake in chickens (Vohra et al., 1966), leading to lower body weight and poor feed conversion ratio. However, Kumar et al. (2010) reported an improved feed conversion ratio with increased mango seed kernel (MSK) doses in the diet of broilers. Admasu et al. (2020) reported that replacing maize with boiled MSK at 40% in the diet of broilers did not affect FCR but improved final body weight. Govindappa (2022), presented that feeding of graded levels of MSK powder did not result in a significant difference in body weight, feed intake, feed efficiency, or survivability between the control and treatment groups of Giriraja birds. Farag et al. (2022) investigated that replacing yellow corn with soaked mango seed kernel (SMSK) up to 20% resulted in increased egg production, egg weight, number of eggs, and egg mass and improved FCR. However, Odunsi (2005) reported that incorporating 5% raw mango seed kernel meal in layers led to decreased laying rate and weight loss. The lower laying rate and weight loss could be attributed to the fact that the tannin content in the mango kernel of these diets may be above the threshold of 0.30% which can be tolerated by chicks (Jansman, 1993). Agbolosu et al. (2014) found no significant differences in mean feed intake, final live-weight, DWG, FCR, feed cost per kg, and feed cost per gain in guinea fowls fed boiled mango kernel meal (BMKM) at inclusion levels of 0% (control), 10%, 15%, and 20%. The researchers concluded that BMKM could replace maize up to 20% in the diet of local guinea fowls without any adverse effects on growth.

#### **Carcass characteristics:**

Research has been carried out to explore the potential impact of mango and its derivatives on the carcass characteristics of birds by adding them to the diet of poultry birds. Adeyemi et al. (2021) investigated the effect of mango leaf (ML) in broilers and found that the ML-supplemented birds had significantly higher body weight gain (BWG) and carcass weight compared to those in the control group. Similarly, Toson and Yassien (2022) found that supplementation of AMLE (20ml/litre) in broiler chicks resulted in significant improvement in the carcass weight and dressing percentage, and a superior index of whole edible meat. However, there was no significant effect on the edible organs (liver, kidneys, gizzard, and heart) and abdominal fat rate. These results are consistent with those reported by Zhang et al. (2017), who showed that dietary mango leaf extract supplementation did not significantly affect the edible organs and abdominal fat percentage. Emshaw et al. (2012) also found that chickens fed on different levels of mango fruit waste (MFW) did not show significant differences in the weights of the carcass, breast, thighs, drumsticks, and dressing percentages compared to control diets. In contrast, Farag et al. (2022) reported that the carcass weight and dressing percentage of Gimmizah breeds of laying hens were positively affected by a diet containing 10% and 15% soaked mango seed kernel (SMSK), except for the heart, pancreas, and spleen. Aka-Tanimo et al. (2020) conducted a trial on broilers using mango leaf meal (MLM) at different inclusion levels. The study found that broiler chickens fed with 7.5% MLM had a higher dressing percentage. The eviscerated weight was significantly higher in broiler chickens fed 5.0% MLM with the least value in broiler chickens fed 10.0% MLM. The improvement in carcass could be attributed to the phytochemicals present in seed kernel, which have been reported to have antioxidant properties, maintain the integrity of intestinal mucosa, and enhance feed efficiency and body weight gain (Vidanarachchi et al., 2005).

### **Meat quality:**

In light of growing health concerns, the demand for low-cholesterol meat has been increasing among consumers. Adeyemi et al. (2021) conducted a study on broilers to explore the potential of using mango leaf (ML) as a supplement to reduce meat cholesterol levels, broiler chickens fed with ML had lower meat cholesterol compared to those supplemented with antibiotics and tert-Butylhydroxyanisole (BHA). The researchers attributed this effect to the inhibitory action of phytochemicals found in mango leaves on 3-hydroxy-3-methyl glutaryl-CoA enzyme, an enzyme crucial for cholesterol synthesis (Crowell, 1999). Adeyemi et al. (2021) found that meat from birds supplemented with ML-5 had higher activities of glutathione peroxidase (GSH-Px) and catalase (CAT) enzymes, as well as total antioxidant capacity (TAC), compared to unsupplemented and ML-2.5 meats. However, meat superoxide desmutase (SOD) activity was not affected by dietary treatments, indicating the potential of mango leaf phytochemicals as an antioxidant supplement. Sellamuthu et al. (2013) suggested that polyphenols may have synergistic or sparing antioxidant effects on endogenous antioxidant enzymes. According to Adeyemi et al. (2021), adding mango leaf extract to chicken feed did not affect breast meat pH at 45 minutes and 24 hours postmortem but reduced drip loss at 24 and 72 hours postmortem. ML-supplemented meat was accompanied by reduced carbonyl content, indicating that the antioxidant compounds in the ML hinder the oxidative degradation of myofibrils in birds. Zhang et al. (2017) also reported decreased drip loss in the breast meat of birds given mango leaf extract supplements. Use of mango peel extract (Freitas et al., 2012) and *Syzygium aromaticum* leaf, and *Myristica fragrans* seed (Adu et al., 2020) reduced lipid oxidation in broiler meat. Phytochemicals in plants act as natural antioxidants by donating hydrogen ions to inhibit the formation of free radicals and/or interrupt the propagation of lipid and protein oxidation in the muscle (Nakyinsige et al., 2016).

### **Gut microbiota:**

Maintaining a well-balanced gut microbiota is critical for broiler birds to achieve optimal health and productivity (Yang et al., 2009). The dietary components can influence the composition of the caecal microbiota (Bauer et al., 2006). In a recent study by Adeyemi et al. (2021) investigating the effects of mango leaf supplements (2.5g/kg and 5g/kg) and antibiotics on broilers, it was found that the birds treated with 5g of mango leaf (ML) had a significantly lower count of *Lactobacillus spp.* compared to the ML-2.5 and unsupplemented birds, but a higher count compared to antibiotic-BHA-supplemented birds. The counts of caecal *E. coli* and *Salmonella spp.* were significantly higher in the unsupplemented birds than in the treated birds, and within treatments, ML-5 birds had a lower *E. coli* count than antibiotic-BHA-supplemented birds. The findings of the study indicate that the phytochemicals in mango leaves possess antimicrobial properties. Mango leaf extract was found to have a potent antimicrobial effect against *E. coli*, *S. enteritidis*, and *P. aeruginosa* in vitro, which could contribute to improving gut health in broilers (Abiala et al., 2016). Phytochemicals can exert their antimicrobial properties by disrupting pathogenic microbial membranes, releasing immunostimulatory substances, and promoting the growth of beneficial microbes in the gut such as *Bifidobacteria* and *Lactobacillus spp.* (Vidanarachchi et al., 2005; Hashemi & Davoodi, 2012).

### **Immunomodulation:**

Cytokines are vital regulatory peptides that facilitate intercellular communication in the immune system and play a significant role in initiating and regulating immune responses (Kaiser & Stäheli, 2014). In a recent study by Adeyemi et al. (2021), it was found that birds that were fed mango leaves (ML) at a rate of 2.5g/kg had lower levels of interleukin-10 than those fed with 5g/kg of ML or supplemented with antibiotics and BHA. Moreover, the ML-5 diet was found to downregulate interleukin-1b more efficiently than other diets. However, tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) was higher in the unsupplemented birds than in those that were treated, and the ML-5 diet resulted in higher TNF- $\alpha$  levels than the ML-2.5 and antibiotic-BHA-supplemented birds. This finding could be attributed to the antioxidant properties of the supplements that have been shown to modulate cytokine expression by promoting the proliferation of macrophages and lymphocytes in chickens (Niu et al., 2009). Supplementation of dietary antioxidants in the diet of broilers has been found to downregulate the expression of pro-inflammatory cytokines (Jang et al., 2014). Research studies have demonstrated that mangiferin, a phytochemical present in mango leaves, can upregulate IL-10 and downregulate TNF- $\alpha$

and IL-1b in mice (Morais et al., 2015). The reliable markers of immune response in birds are antibodies (Härtle et al., 2022). In a study conducted by Adeyemi et al. (2021), it was observed that serum IgM and IgA were higher in unsupplemented birds than in those supplemented with mango leaf and antibiotics. Additionally, the researchers observed that IgM levels were lower in birds fed with ML-5 than in those fed with ML-2.5 and antibiotics. Similarly, serum IgA levels in the ML-5 and antibiotic-BHA-supplemented birds were lower than those in the ML-2.5 group. Another study by Farag et al. (2022) demonstrated that increasing the soaked mango seed kernel (SMSK) in the diet of laying hens led to a significant increase in IgG concentration, with no effect on IgM levels. It has been observed that immunomodulatory properties of phytochemicals are generally more pronounced in diseased or immunocompromised states, and mango leaf appears to exhibit anti-inflammatory properties in a dose-dependent manner (Kim et al., 2017).

#### **Blood hematology and biochemistry:**

Blood parameters are an important tool for assessing the health status of animals. Soomro et al. (2013) conducted a study in the broilers, supplemented with mangchico pulp at different levels (2, 3, and 4% /kg of diet), and found that hemoglobin, red blood cell (RBC), and white blood cell (WBC) counts were not affected. Likewise, Odunsi (2005) reported no effect on lymphocyte count when maize was substituted with mango seed kernel (MSK) in broiler feed but 10% MSK substitution significantly increased hemoglobin content in broilers. However, Moustafa et al. (2019) observed that replacing corn with MSK in cockerels' diets significantly impacted various blood indices, including hemoglobin, packed cell volume (PCV), RBC, WBC, lymphocytes, and neutrophils counts. In contrast, Amao and Siyanbola (2013) found that substituting maize with dry heat-treated MSK up to 20% in broiler feed increased hemoglobin concentration. The reason for the change and no change in the blood hematology is still not known.

Serum cholesterol and triglyceride concentrations are reflective of lipid metabolism in animals. Adeyemi et al. (2021) found that serum total cholesterol and low-density lipoproteins (LDL)-cholesterol was lower in mango leaf (ML)-supplemented birds than in unsupplemented birds. Adeyemi et al. (2021) also reported that ML-2.5 birds had lower total cholesterol levels than ML-5 birds, which may be attributed to the higher counts of *Lactobacillus spp.* in the caeca of ML-2.5 birds compared to ML-5 birds. *Lactobacillus spp.* has been shown to bind cholesterol on cellular surfaces and convert intestinal cholesterol to coprostanol, thereby reducing cholesterol levels (Lye et al., 2010). The lower cholesterol levels in the ML-supplemented birds may be attributed to the presence of phytochemicals, particularly mangiferin, which inhibits the activity of the crucial enzyme, 3-hydroxy-3-methyl glutaryl-CoA, in cholesterol synthesis (Crowell, 1999). Likewise, Zhang et al. (2017) observed lower plasma cholesterol in broiler chickens supplemented with mango leaf extract. Incorporating *Lactobacillus spp.* into the diet can have a positive impact on cholesterol levels due to its ability to reduce pH and de-conjugate bile salts, thereby promoting fecal excretion and reducing cholesterol synthesis in the liver (Ramasamy et al., 2010). Zhang et al. (2017) found that supplementation of mango seed at 0.28% in the chick feed led to decreased plasma total cholesterol and triglyceride levels, as well as decreased glucose content in plasma on day 42. Liver function in broiler chicks can be evaluated by measuring various markers such as total protein (TP), albumin (ALB), glucose (GL), albumin(A)/globulin(G) ratio, aspartate aminotransferase (AST), alkaline aminotransferase (ALT), LDH, total bilirubin (TB), and alkaline phosphate (ALP) (Quezada et al., 2000). Toson and Yassien (2022) found that the addition of AMLE to the drinking water of broiler chicks significantly increased plasma TP and decreased plasma AST and ALT levels, while having no significant effect on other parameters of albumin, globulin, A/G ratio, lactate dehydrogenase, TP, and ALP. These biochemical markers are indicative of liver function and are closely associated with hepatic lipidosis in animals (Attia and Al-Harhi, 2015). In addition, the use of AMLE insignificantly reduced plasma creatinine, urea, and uric acid contents and significantly decreased plasma total cholesterol (TC) and triglycerides (TG), these markers are reliable indicators of lipid metabolism status and can be linked to metabolic disorders in broilers (Alvarenga et al., 2011). The presence of polyphenolic compounds like mangiferin and other flavonoids in AMLE may be responsible for the reduction in plasma cholesterol and triglyceride contents. Research studies have shown that mangiferin can decrease total plasma cholesterol and triglycerides in rats (Muruganandan et al., 2005), while flavonoids have been found to improve lipid metabolism in broiler chicks (Cao et al., 2012). Farag

et al. (2022) investigated the effects of dietary SMSK on laying hens and found that hematological indices were not affected by dietary SMSK, except for higher platelet levels in the SMSK 20% supplemented group. Furthermore, the levels of TP, AST, ALT, and ALP were similar among all treatments. However, the same study presented that serum levels of TC, TG, and malondialdehyde (MDA) decreased significantly, while IgG and catalase levels increased in the SMSK-treated groups. SMSK up to 20% can be a successful nutritional and health approach and can be used to partially substitute yellow corn without negatively affecting the productive, reproductive, and physiological performance of laying hens (Farang et al. (2022).

#### **Antioxidant capacity:**

Polyphenolic compounds and flavonoids are essential components of human and animal diets, and mango by-products and leaves are a notable source of these compounds, contributing significantly to antioxidant activity (Gazwi and Mahmoud, 2019). Supplementation of aqueous extract of mango leaves (AMLE) at 20ml/liter water resulted in increased plasma content of superoxide dismutase (SOD), (MDA), and total antioxidant capacity (TAC) in broiler chicks, while plasma glutathione (GSH), nitric oxide (NO), and catalase (CAT) were unaffected (Toson and Yassien, 2022). The high antioxidant activity of mango leaf extract can be attributed to its polyphenolic compounds and flavonoid content (Ma et al., 2011). SOD and GSH are essential components of the body's antioxidant system, protecting against oxidative stress, while MDA and GSH levels serve as markers for assessing the body's antioxidant defenses (El-Boshy et al., 2015). TAC is used to determine the biological antioxidant status and the response of antioxidants to free radical stress (Toson and Yassien, 2022). The supplementation of chicken feed with plant extracts containing high levels of phenolic compounds has been shown to enhance GSH-Px activity in chickens reared under chronic thermal stress (Hassan et al., 2016). Dietary supplementation of broiler chicks with antioxidant-rich plant products could improve the scavenging of oxygen reactive species and preserve fat sources (Ahmed, 2019). Farang et al. (2022) conducted a study on laying hens using SMSK and observed that the SMSK-treated groups had significantly higher serum CAT concentrations than the control group and the control group was having higher MDA levels. Similarly, Zhang et al. (2017) in his study found that feeding broiler chickens with mango seeds at a rate of 0.14% on day 21 significantly increased the total antioxidant capacity (TAC) in plasma.

#### **Egg production and egg quality:**

In the layer chicken business, egg production and quality are crucial economic indicators (Wolc et al., 2012). Farang et al. (2022) conducted a study on laying hens, in which yellow corn was replaced with SMSK at the rate of 0,10,15 and 20% levels in the diet, resulting in a significant increase in egg production, egg weight, egg number, and egg mass compared to the control group. However, Odunsi (2005) observed that replacing maize with more than 10% raw MSK resulted in a decrease in egg production rate, egg mass, feed consumption, feed efficiency, and increased weight loss in hens. In contrast, Beyene et al. (2019) reported no effect on dry matter intake, FCR, and egg production when maize grain was replaced with mango seed kernel. Freitas et al. (2012) investigated the effect of synthetic antioxidants and extracted mango ethanolic compounds on the performance of laying hens and found that their addition did not affect their performance. Lokaewmanee et al. (2011) supplemented the diet of laying hens with paprika extract or mango skin alone or in combination and observed no significant effects on their performance or egg quality parameters, except for yolk lipid oxidation during storage, which was affected by antioxidants present in the supplements in the form of polyphenols. Mango peel extract at 400 ppm and mango seed extract at 200 or 400 ppm was effective in preventing oxidative damage to eggs during storage and could replace synthetic antioxidants in the diet of laying hens (Freitas et al., 2012). Maisuthisakul & Gordon (2009) found that the seed of mango is an excellent source of tocopherols, which have antioxidant properties and can inhibit oxidative catalysts like tyrosinase. Mango is also a good source of natural antioxidants, including phenolic compounds like mangiferin (Abdalla et al., 2007), which have potent antioxidant activity (Barreto et al., 2008). Barry et al. (2019) found that adding mango to the hens' diet did not significantly influence egg weight and density, however, eggs from the mango and maize diet had a higher weight compared to those from the control maize diet and the absolute control diet. In a separate study, replacing maize grain with MSK at various levels (0%, 25%, 50%, 75%, and 100%) did not affect dry matter intake, FCR, hen-day egg production, or egg quality parameters, furthermore, increasing levels of MSK in the diet led to a

reduction in feed costs, indicating that MSK can replace maize grain in the diet of laying hens for better economic return without affecting egg production and quality parameters (Beyene et al., 2019). In a study, Kolo et al. (2019) tested the effects of fermented mango kernel meal (FMKM) in quails regarding hen-day egg production, hen-house egg production, and mean daily feed intake, and found no significant differences among treatment groups, except for quails on 20% and 25% inclusion levels of FMKM, which were the best converters of feed to eggs. Odunsi (2005) reported inclusion of SMSK up to 25% did not affect the internal egg quality characteristics in hens and found no differences in yolk weight and height, color, and yolk index between hens fed on SMSK and control diets.

#### **Fertility and hatchability:**

A few studies have been done to evaluate the effect of mango and its extracts on the fertility and hatchability of parent flock chickens. Farag et al. (2022) conducted a study on the impact of different levels of SMSK on egg fertility, hatchability, and hatched chick weight in laying hens and found the highest fertility, hatchability, post-hatch chick weight, and the number of eggs in the SMSK 10% and SMSK 15% groups, followed by the SMSK 20% group. Furthermore, the groups fed varying levels of SMSK had a lower rate of embryonic mortality. These results are contradictory to Beyene et al. (2015), who found no significant differences in different treatment groups consisting of 0%, 25%, 50%, 75%, and 100% mango Kernel on the fertility, hatchability, embryonic mortality, quality of hatched chicks, chick weight of Bovan brown breeder hens. Beyene et al.(2015) suggested that maize can be replaced by mango kernel up to 100% without negative effects on fertility, hatchability, embryonic mortality, and quality of hatched chicks. It is important to note that limited research has been conducted to evaluate the effects of mango and its extracts/compounds on egg fertility, hatchability, and hatched chick weight in breeder-laying hens. Tona et al. (2004) also found a positive correlation between egg weight and hatching chick weight. The weight of hatched chicks increased significantly when hens were fed a diet containing SMSK up to 20%, which could be attributed to the improvement of egg weight by replacing yellow corn with 20% SMSK in the diets (Farag et al.,2022). While the poor hatchability rates may result from insufficient nutrients in breeder diets (Hocking et al. (2002).

#### **Conclusion:**

In recent years, the potential of mango as a nutraceutical product for poultry has been investigated. Several research studies have indicated that including mango and its byproducts, such as peel and seed kernel, in poultry diets can have positive effects on various aspects of poultry performance. These include improved growth performance, carcass characteristics, blood biochemistry, antioxidant status, egg production and quality, and fertility and hatchability. The use of mango seed kernel as a replacement for maize in poultry diets has also been found to be a viable and cost-effective option that does not negatively impact egg production and quality. The presence of various bioactive compounds in mango, such as polyphenols, carotenoids, and vitamins, may contribute to these beneficial effects on poultry health and productivity. However, there is still a lack of research on the use and effects of mango-based polyphenolic compounds in poultry. To fully understand the potential of mango in poultry diets, further research is needed to determine the optimal inclusion rate of mango and its byproducts and to evaluate any potential negative effects on poultry health and performance. Despite this, incorporating mango into poultry diets has shown promising results and warrants further investigation. Overall, mango has the potential to be a valuable addition to poultry diets, providing benefits for both poultry health and productivity.

#### **References**

- Abdalla, A. E., Darwish, S. M., Ayad, E. H., & El-Hamahmy, R. M. (2007). Egyptian mango by-product 1. Compositional quality of mango seed kernel. *Food chemistry*, 103(4), 1134-1140.
- Abiala, M., Olayiwola, J., Babatunde, O., Aiyelaagbe, O., & Akinyemi, S. (2016). Evaluation of therapeutic potentials of plant extracts against poultry bacteria threatening public health. *BMC complementary and alternative medicine*, 16(1), 1-8.
- Adeyemi, K. D., Olanrewaju, S. M., Adewunmi, P. S., & Abdulqadir, Z. (2021). Mango leaf and synthetic additives in broiler diet: impact on growth, caecal microbiota, immunity, blood chemistry, and meat quality. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 20(7), 482-489.



- Admasu, S., Wondifraw, Z., & Gash, M. (2020). Effects of replacing maize with boiled mango (*Mangifera indica*) seed kernel on feed intake, body weight gain and feed conversion ratio of Cobb 500 Broiler Chicken. *Poultry, Fisheries and Wildlife Sciences* 8: 1–10. *Poultry, Fisheries and Wildlife Sciences*, 8, 211.
- Adu, O. A., Gbore, F. A., Oloruntola, O. D., Falowo, A. B., & Olarotimi, O. J. (2020). The effects of *Myristica fragrans* seed meal and *Syzygium aromaticum* leaf meal dietary supplementation on growth performance and oxidative status of broiler chicken. *Bulletin of the National Research Centre*, 44(1), 1-10.
- Agbolosu, A. A., Amoah, F., & Dei, H. K. (2014). GROWTH PERFORMANCE OF INDIGENOUS GUINEA FOWLS FED VARIED LEVELS OF BOILED MANGO KERNEL MEAL.
- Ahmed, S. K. (2019). Egg yolk fatty acids, blood parameters and some reproductive measurements of Japanese quail supplemented with chia seeds (*Salvia hispanica* L.). *Poultry Science*, 18, 129-135.
- Ajila, C. M., Brar, S. K., Verma, M., Tyagi, R. D., Godbout, S., & Valéro, J. R. (2012). Bio-processing of agro-byproducts to animal feed. *Critical reviews in biotechnology*, 32(4), 382-400.
- Aka-Tanimo, H. A., Oshibanjo, D. O., Adelowo, V. O., Akwashiki, M. A., Azi, I. W., James, O. C., ... & Sunday, A. Y. (2020). Growth performance, carcass characteristics and hematology indices of broiler chicken fed graded levels of (*Mangifera indica*) mango leaf meal. *Asian Journal of Research in Animal and Veterinary Sciences*, 6(2), 20-27.
- Alvarenga RR, Zangeronimo MG, Pereira LJ, Rodrigues PB, Gomide EM (2011). Lipoprotein metabolism in poultry. *Worlds J Poult Sci*. 67:431– 40. <https://doi.org/10.1093/jn/127.5.805S>
- Amao, E. A., & Siyanbola, M. F. (2013). Carcass and physiological response of broilers fed dry heat treated mango (*Mangifera indica*) kernel based diet. *International Journal of Livestock Production*, 4(3), 30-34.
- Attia, Y. A., & Al-Harhi, M. A. (2015). Nigella seed oil as an alternative to antibiotic growth promoters for broiler chickens. *Europ Poult Sci*, 79(80), 10-1399.
- Barreto, J. C., Trevisan, M. T., Hull, W. E., Erben, G., De Brito, E. S., Pfundstein, B., ... & Owen, R. W. (2008). Characterization and quantitation of polyphenolic compounds in bark, kernel, leaves, and peel of mango (*Mangifera indica* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(14), 5599-5610.
- Barry, D., Kiendrebeogo, T., Sere, M., Combari, A., Logténé, Y. M., & Kaboré-Zoungrana, C. Y. (2019). Effects of Mango Wastes-Based Diets on the Growing Parameters of Laying Hens and Biometric Parameters of the Eggs. *Open Access Library Journal*, 6(11), 1-13.
- Bauer, E., Williams, B., Smidt, H., Mosenthin, R., & Verstegen, M. (2006). Influence of dietary components on development of the microbiota in single-stomached species. *Nutrition Research Reviews*, 19(1), 63-78. doi:10.1079/NRR2006123
- Berardini, N., Fezer, R., Conrad, J., Beifuss, U., Carle, R., & Schieber, A. (2005). Screening of mango (*Mangifera indica* L.) cultivars for their contents of flavonol O- and xanthone C-glycosides, anthocyanins, and pectin. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(5), 1563-1570.
- Beyene, G., Niguse, M., Berhe, A., & Arefaine, D. (2019). Boiled mango (*mangifera indica*) seed kernel could replace maize grain in layer's diet in Northern Ethiopia. *Journal of the Drylands*, 9, 986-995.
- Cao, F. L., Zhang, X. H., Yu, W. W., Zhao, L. G., & Wang, T. (2012). Effect of feeding fermented *Ginkgo biloba* leaves on growth performance, meat quality, and lipid metabolism in broilers. *Poultry science*, 91(5), 1210-1221.
- Crowell, P. L. (1999). Prevention and therapy of cancer by dietary monoterpenes. *The Journal of nutrition*, 129(3), 775S-778S.
- Dar, A., Faizi, S., Naqvi, S., Roome, T., Zikr-ur-Rehman, S., Ali, M., ... & Moin, S. T. (2005). Analgesic and antioxidant activity of mangiferin and its derivatives: the structure activity relationship. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28(4), 596-600.

- Diarra, S. S. (2014). Potential of mango (*Mangifera indica* L.) seed kernel as a feed ingredient for poultry: a review. *World's Poultry Science Journal*, 70(2), 279-288.
- Du, B., Zhang, Y., Lam, J. C., Pan, S., Huang, Y., Chen, B., ... & Zeng, L. (2019). Prevalence, biotransformation, and maternal transfer of synthetic phenolic antioxidants in pregnant women from South China. *Environmental Science & Technology*, 53(23), 13959-13969.
- Dzamic, A.M., Marin, P.D, Gbolade, A.A., Ristic M.S.(2010). Chemical composition of *Mangifera indica* essential oil from Nigeria. *J. Essen. Oil Res.* 22
- Ediriweera, M. K., Tennekoon, K. H., Samarakoon, S. R., Adhikari, A., Thabrew, I., & De Silva, E. D. (2017). Isolation of a new resorcinolic lipid from *Mangifera zeylanica* Hook. f. bark and its cytotoxic and apoptotic potential. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 89, 194-200.
- El-Boshy, M. E., Risha, E. F., Abdelhamid, F. M., Mubarak, M. S., & Hadda, T. B. (2015). Protective effects of selenium against cadmium induced hematological disturbances, immunosuppressive, oxidative stress and hepatorenal damage in rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 29, 104-110.
- Emshaw, Y., Melesse, A., & Assefa, G. (2012). The effect of dietary inclusion of mango (*Mangifera indica* L.) fruit waste on feed intake, growth and feed efficiency of Cobb-500 broiler chickens. *Ethiopian Journal of Agricultural Sciences*, 22(1), 73-83.
- FAO (2011) FAOSTAT. Food and Agriculture Organisation of the United Nations. <http://faostat.fao.org/default.aspx>
- FAO. Global initiative on food losses and waste reduction. 2011. Available from: URL: <http://www.fao.org/docrep/015/i2776e/i2776e00.pdf>
- FAO. World Livestock 2011 – Livestock in Food Security.FAO, Rome; 2011. Available from: URL: <http://www.fao.org/docrep/014/i2373e/i2373e.pdf>
- Farag, M. E. E., Moustafa, K. E., El-Saadany, A. S., & Hafsa, S. H. A. (2022). Effect of Partial Replacement of Yellow Corn by Mango Seed Kernel on Productive Performance, Egg Quality, and Blood Constituents of Laying Hens. *Journal of World's Poultry Research*, 12(2), 85-97.
- Freitas, E. R., Borges, Â. D. S., Trevisan, M. T. S., Watanabe, P. H., Cunha, A. L. D., Pereira, A. L. F., & Nascimento, G. A. J. D. (2012). Extratos etanólicos da manga como antioxidantes para frangos de corte. *Pesquisa agropecuária brasileira*, 47, 1025-1030.
- Galán Saúco, V. (2002, September). Mango production and world market: Current situation and future prospects. In *VII International Mango Symposium 645* (pp. 107-116).
- Garcia, D., Leiro, J., Delgado, R., Sanmartin, M. L., & Ubeira, F. M. (2003). *Mangifera indica* L. extract (Vimang) and mangiferin modulate mouse humoral immune responses. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 17(10), 1182-1187.
- García-Mahecha, M., Soto-Valdez, H., Carvajal-Millan, E., Madera-Santana, T. J., Lomelí-Ramírez, M. G., & Colín-Chávez, C. (2023). Bioactive Compounds in Extracts from the Agro-Industrial Waste of Mango. *Molecules*, 28(1), 458. <https://doi.org/10.3390/molecules28010458>
- Garrido, G., González, D., Lemus, Y., Garcia, D., Lodeiro, L., Quintero, G. and Delgado, R. (2004). In vivo and in vitro anti-inflammatory activity of *Mangifera indica* L. extract (VIMANG®). *Pharmacological Research*, 50(2), 143-149.
- Gazwi, H. S. S. and Mahmoud, M. E. (2019): Restorative activity of aqueous extract *Mangifera indica* leaves against CCl4 induced hepatic damage in rats *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 164: 112–118
- Gopalan, C., Rama Shastri, B.V., Balasubramanian, S.C. Nutritive value of Indian foods; National Institute of Nutrition: Hyderabad, India, 1977.

- Govindappa, P. (2022). Effect of replacement of maize with graded levels of mango seed kernel powder on growth performance in Giriraja birds.
- Härtle, S., Magor, K. E., Göbel, T. W., Davison, F., & Kaspers, B. (2022). Structure and evolution of avian immunoglobulins. In *Avian immunology* (pp. 101-119). Academic Press.
- Hashemi, S. R., & Davoodi, H. (2012). Herbal plants as new immuno-stimulator in poultry industry: a review. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 7(2), 105-116.
- Hassan, F. A., Mahrose, K. M., & Basyony, M. M. (2016). Effects of grape seed extract as a natural antioxidant on growth performance, carcass characteristics and antioxidant status of rabbits during heat stress. *Archives of animal nutrition*, 70(2), 141-154.
- Hocking, P. M., Maxwell, M., Robertson, G. W., & Mitchell, M. A. (2002). Welfare assessment of broiler breeders that are food restricted after peak rate of lay. *British Poultry Science*, 43(1), 5-15.
- ICHIKI, H., MIURA, T., KUBO, M., ISHIHARA, E., KOMATSU, Y., TANIGAWA, K., & OKADA, M. (1998). New antidiabetic compounds, mangiferin and its glucoside. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 21(12), 1389-1390.
- Ignat, I., Volf, I., & Popa, V. I. (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food chemistry*, 126(4), 1821-1835.
- Imran, M., Arshad, M. S., Butt, M. S., Kwon, J. H., Arshad, M. U., & Sultan, M. T. (2017). Mangiferin: a natural miracle bioactive compound against lifestyle related disorders. *Lipids in health and disease*, 16(1), 1-17.
- Jagetia, G. C., & Venkatesha, V. A. (2005). Effect of mangiferin on radiation-induced micronucleus formation in cultured human peripheral blood lymphocytes. *Environmental and molecular mutagenesis*, 46(1), 12-21.
- Jahurul, M. H. A., Zaidul, I. S. M., Ghafoor, K., Al-Juhaimi, F. Y., Nyam, K. L., Norulaini, N. A. N. And Omar, A. M. (2015). Mango (*Mangifera indica* L.) by-products and their valuable components: A review. *Food chemistry*, 183, 173-180.
- Jang, I. S., Ko, Y. H., Moon, Y. S., & Sohn, S. H. (2014). Effects of vitamin C or E on the pro-inflammatory cytokines, heat shock protein 70 and antioxidant status in broiler chicks under summer conditions. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 27(5), 749-756.
- Jansman, A.J. (1993). Tannins in Feed Feedstuffs for Simple Stomached Animals. *Nutrition Res. Rev.* 6:209
- JEDELE, S., HAU, A.M. and VON OPPEN, M. (2003) An analysis of the world market for mangos and its importance for developing countries. Deutscher Tropentag 2003, Göttingen, October 8-10, 2003. Conference on International Agricultural Research for Development.
- Joseph, J. K., & Abolaji, J. (1997). Effects of replacing maize with graded levels of cooked Nigerian mango-seed kernels (*Mangifera indica*) on the performance, carcass yield and meat quality of broiler chickens. *Bioresource Technology*, 61(1), 99-102.
- Kaiser, P., & Stäheli, P. (2014). Avian cytokines and chemokines. In *Avian immunology* (pp. 189-204). Academic Press.
- Kim, H., Banerjee, N., Barnes, R. C., Pfent, C. M., Talcott, S. T., Dashwood, R. H., & Mertens-Talcott, S. U. (2017). Mango polyphenolics reduce inflammation in intestinal colitis-involvement of the miR-126/PI3K/AKT/mTOR axis in vitro and in vivo. *Molecular carcinogenesis*, 56(1), 197-207. <https://doi.org/10.1002/mc.22484>
- Kolo, Y. S., Samuel, T., & Charles, H. (2019). PERFORMANCE OF LAYING JAPANESE QUAILS (*Coturnix coturnix japonica*) FED DIETS CONTAINING FERMENTED MANGO (*mangifera* spp) KERNEL COMPOSITE MEAL AS REPLACEMENT FOR MAIZE. *Journal of Agriculture and Veterinary Sciences*, 11(3).

- Kumar, D., & Singh, P. K. (2010). Effects of feeding mango seed kernel on performance, carcass characteristics and cost of feeding in broiler starter. *Indian Journal of Poultry Science*, 45(1), 46-49.
- Lebaka, V. R., Wee, Y. J., Ye, W., & Korivi, M. (2021). Nutritional composition and bioactive compounds in three different parts of mango fruit. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(2), 741.
- Liu, H., Wang, K., Tang, Y., Sun, Z., Jian, L., Li, Z., and Huang, C. (2011). Structure elucidation of in vivo and in vitro metabolites of mangiferin. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 55(5), 1075-1082.
- Lokaewmanee, K., Yamauchi, K., Komori, T., & Saito, K. (2011). Effects of mango skin or mango skin combined with paprika extracts on production performance, egg quality and egg yolk polyphenols. *Journal of Agricultural Science and Technology*. (1)1257-1260.
- Luo, F., Lv, Q., Zhao, Y., Hu, G., Huang, G., Zhang, J., ... & Chen, K. (2012). Quantification and purification of mangiferin from Chinese mango (*Mangifera indica* L.) cultivars and its protective effect on human umbilical vein endothelial cells under H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(9), 11260-11274.
- Lye, H. S., Rusul, G., & Liong, M. T. (2010). Removal of cholesterol by lactobacilli via incorporation and conversion to coprostanol. *Journal of dairy science*, 93(4), 1383-1392.
- Ma, X., Wu, H., Liu, L., Yao, Q., Wang, S., Zhan, R., ... & Zhou, Y. (2011). Polyphenolic compounds and antioxidant properties in mango fruits. *Scientia Horticulturae*, 129(1), 102-107.
- Ma, X., Wu, H., Liu, L., Yao, Q., Wang, S., Zhan, R., and Zhou, Y. (2011). Polyphenolic compounds and antioxidant properties in mango fruits. *Scientia Horticulturae*, 129(1), 102-107.
- MAISUTHISAKUL, P. and GORDON, M.H. (2009) Antioxidant and tyrosinase inhibitory activity of mango seed kernel by product. *Food Chemistry* 117 (2): 332-341.
- Maldonado-Celis, M. E., Yahia, E. M., Bedoya, R., Landázuri, P., Loango, N., Aguillón, J., Restrepo, B., & Guerrero Ospina, J. C. (2019). Chemical Composition of Mango (*Mangifera indica* L.) Fruit: Nutritional and Phytochemical Compounds. *Frontiers in plant science*, 10, 1073. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01073>
- Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., & Rémésy, C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *The American journal of clinical nutrition*, 81(1), 230S-242S.
- Matkowski, A., Kuś, P., Góralaska, E., Woźniak, D. (2013). Mangiferin: A bioactive xanthonoid, not only from mango and not just antioxidant. *Mini-Reviews Medic. Chemis.*13(3):439–55.
- Mishra, B., Jha, R., 2019. Oxidative stress in the poultry gut: potential challenges and interventions. *Frontier in Veterinary Science*. 6, 60.
- Morais, T. C., Arruda, B. R., de Sousa Magalhães, H., Trevisan, M. T. S., de Araújo Viana, D., Rao, V. S., & Santos, F. A. (2015). Mangiferin ameliorates the intestinal inflammatory response and the impaired gastrointestinal motility in mouse model of postoperative ileus. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 388, 531-538.
- Moustafa, K. E. M. (2019). Effect of dietary mango seed kernel (*Mangifera indica*) as partial replacement of corn on productive and physiological performance of growing gimmizah cockerels. *Egyptian Poultry Science Journal*, 39(4), 865-879.
- Muruganandan S, Lal J, Gupta PK.(2005). Immunotherapeutic effects of mangiferin mediated by the inhibition of oxidative stress to activated lymphocytes, neutrophils and macrophages. *Toxicology*. 215(1-2):57–68.
- Nakyinsige, K. (2016). Effect of Belimbing Wuluh Juice Extract on Oxidative Stability and Microbiological Quality of Spent Chicken Meat. *International Food Research Journal*, 23.

Nayan, V., Onteru, S. K., & Singh, D. (2018). *Mangifera indica* flower extract mediated biogenic green gold nanoparticles: Efficient nanocatalyst for reduction of 4-nitrophenol. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 37(1), 283-294.

Niu, Z. Y., Liu, F. Z., Yan, Q. L., & Li, W. C. (2009). Effects of different levels of vitamin E on growth performance and immune responses of broilers under heat stress. *Poultry science*, 88(10), 2101-2107.

O'Neill, J., 2015. Antimicrobials in Agriculture and the Environment: Reducing Unnecessary Use and Waste; Wellcome Trust: London, UK, Available online: [https://amr-review.org/sites/default/files/Antimicrobials%20in%20agriculture%](https://amr-review.org/sites/default/files/Antimicrobials%20in%20agriculture%20report.pdf)

Odunsi, A. (2005) Response of Laying Hens and Growing Broilers to the Dietary Inclusion of Mango (*Mangifera indica* L.) Seed Kernel Meal. *Tropical Animal Health and Production*, 37, 139–150. <https://doi.org/10.1023/B:TROP.0000048455.96694.85>

Okwu, D. E., & Ezenagu, V. I. T. U. S. (2008). Evaluation of the phytochemical composition of mango (*Mangifera indica* Linn) stem bark and leaves. *International Journal of Chemical Sciences*. 6(2), 705-716.

Orayaga, K. T., Oluremi, O. A., Tuleun, C. D., & Carew, S. N. (2015). The feed value of composite mango (*Mangifera indica*) fruit reject meal in the finisher broiler chickens nutrition. *African Journal Food Science and Technology*, 6(6), 177-184.

Park, J. H., Kang, S. N., Shin, D., & Shim, K. S. (2015). Antioxidant enzyme activity and meat quality of meat type ducks fed with dried oregano (*Origanum vulgare* L.) powder. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 28(1), 79.

Quezada, T., Cuellar, H., Jaramillo-Juarez, F., Valdivia, A. G., & Reyes, J. L. (2000). Effects of aflatoxin B1 on the liver and kidney of broiler chickens during development. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*. 125(3), 265-272.

Ramasamy, K., Abdullah, N., Wong, M. C., Karuthan, C., & Ho, Y. W. (2010). Bile salt deconjugation and cholesterol removal from media by *Lactobacillus* strains used as probiotics in chickens. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(1), 65-69.

## References

Sellamuthu, P. S., Arulselvan, P., Kamalraj, S., Fakurazi, S., & Kandasamy, M. (2013). Protective nature of mangiferin on oxidative stress and antioxidant status in tissues of streptozotocin-induced diabetic rats. *International Scholarly Research Notices*.

Siddiq, M., Akhtar, S., & Siddiq, R. (2012). Mango processing, products and nutrition. *Tropical and subtropical fruits: Postharvest physiology, processing and packaging*, 277-297.

Slippers, B., Johnson, G. I., Crous, P. W., Coutinho, T. A., Wingfield, B. D., & Wingfield, M. J. (2005). Phylogenetic and morphological re-evaluation of the *Botryosphaeria* species causing diseases of *Mangifera indica*. *Mycologia*, 97(1), 99-110.

Smith, J.A., 2011. Experiences with drug-free broiler production. *Poult. Sci.* 90, 2670–2678.

Soomro, H., Rind, M. I., Sanjrani, S. N., Magsi, A. S., Barham, G. S., Pirzada, S. A., & Sahito, H. A. (2013). Effect of partial mango pulp mixing in ration on behaviour and production of broiler. *Int. J. Plant Anim. Sci*, 1(1), 030-036.

Tharanathan, R. N., Yashoda, H. M., & Prabha, T. N. (2006). Mango (*Mangifera indica* L.), “The king of fruits”—An overview. *Food Reviews International*, 22(2), 95-123.

Tona, K., Onagbesan, O., De Ketelaere, B., Decuypere, E., & Bruggeman, V. (2004). Effects of age of broiler breeders and egg storage on egg quality, hatchability, chick quality, chick weight, and chick posthatch growth to forty-two days. *Journal of Applied Poultry Research*, 13(1), 10-18.

Toson, E. M., & Yassien, E. E. (2022). EFFECT OF SUPPLEMENTING DRINKING WATER WITH MANGO LEAVES EXTRACT ON GROWTH PERFORMANCE, PLASMA ANTIOXIDANT, AND

- BIOCHEMICAL INDICES OF BROILER CHICKS. *Egyptian Poultry Science Journal*, 42(4), 403-418.
- Vasantha Kumar P, Ravi R, Mohan B, Purushothaman MR.(2006). Effect of feeding mango(*Mangifera indica*)seed kernel on the performance of broilers. *Indian Journal of Animal Science*. 76:644–8
- Vidanarachchi, J.K., Mikkelsen, L.L., Sims, I., Iji, P.A., Choct, M., (2005). Phytobiotics: alternatives to antibiotic growth promoters in monogastric animal feeds. *Recent Adv. Animal Nutrition Australia*. 15, 131–144.
- Vohra, P., Kratzer, F. H., & Joslyn, M. A. (1966). The growth depressing and toxic effects of tannins to chicks. *Poultry Science*, 45(1), 135-142.
- Wadhwa, M., Bakshi, MP.S.(2013) Utilization of fruit and vegetablewastes as livestock feed and as a substrate for generationof other value added products. Makkar HPS, editor.Food and Agriculture Organization of the United Nations.RAP Publication, Bangkok, Thailand; 04. p. 56
- Wadhwa,M., Bakshi, M.P.S., Makkar, H. P. S. (2015). Waste to worth: fruit wastes and by-products as animal feed. CABI Reviews. <https://doi.org/10.1079/PAVSNR20151003>
- Wall-Medrano, A., Olivas-Aguirre, F. J., Ayala-Zavala, J. F., Domínguez-Avila, J. A., Gonzalez-Aguilar, G. A., Herrera-Cazares, L. A., & Gaytan-Martinez, M. (2020). Health benefits of mango by-products. *Food wastes and by-products: Nutraceutical and health potential*, 159-191.
- Wolc, A., Arango, J., Settari, P., O'sullivan, N. P., Olori, V. E., White, I. M. S., & Dekkers, J. C. M. (2012). Genetic parameters of egg defects and egg quality in layer chickens. *Poultry Science*, 91(6), 1292-1298.
- World Health Organization, 2015. Global Action Plan on Antimicrobial Resistance; World Health Organization: Geneva, Switzerland; Available online: [http://www.wpro.who.int/entity/drug\\_resistance/resources/global\\_action\\_plan\\_eng.pdf](http://www.wpro.who.int/entity/drug_resistance/resources/global_action_plan_eng.pdf) (accessed 20 August 2020).
- Yang, Y., Iji, P. A., & Choct, M. (2009). Dietary modulation of gut microflora in broiler chickens: a review of the role of six kinds of alternatives to in-feed antibiotics. *World's Poultry Science Journal*, 65(1), 97-114.
- Zhang, Y. N., Wang, J., Qi, B., Wu, S. G., Chen, H. R., Luo, H. Y., ... & Qi, G. H. (2017). Evaluation of mango saponin in broilers: effects on growth performance, carcass characteristics, meat quality and plasma biochemical indices. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 30(8), 1143-1149.

**CORN RESILIENCE IN THE FACE OF CLIMATE CHANGE CASE OF SYNOPTIC STATIONS IN BENIN**

**GNIHATIN B. A. DARIUS<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Laboratoire de Physique du Rayonnement, Faculté des Sciences et Techniques, Université d'Abomey-Calavi, Bénin, 01 BP 526 Cotonou, Bénin*

**AKPO ARISTIDE. B<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>*Laboratoire de Physique du Rayonnement, Faculté des Sciences et Techniques, Université d'Abomey-Calavi, Bénin, 01 BP 526 Cotonou, Bénin*

**RESUME**

Le déficit de pluie de la dernière décennie en Afrique de l'Ouest et en particulier au Bénin nous pousse à faire l'analyse des tendances des séquences sèches des stations tabulaires à partir des données de pluie quotidiennes. L'objectif général de cette enquête est la recherche de la probabilité des ensembles de séquences sèches dans la période de 1970 à 2018 à partir des données de pluie quotidiennes des stations tabulaires du Bénin. Nous avons extrait de données pluviales quotidiennes de six stations synoptique du Bénin, dans la période de 1970 à 2018 à partir des données de pluie quotidiennes des stations tabulaires de et nous avons analysé la variation de la probabilité de longueur des séquences sèches avec le modèle de chaîne de Markov sur la période de 1970 à 2018 aux données de pluie des stations tabulaires. Nous avons déterminé la durée critique de la période sèche et son impact sur le rendement du maïs, en particulier pendant sa phase de croissance. A partir des résultats, nous pouvons constater d'une part que la probabilité de séquence sèche d'une durée de 5 jours était d'environ 75%. La probabilité de la période de sécheresse de deux semaines était également supérieure à 20%. D'autre part, la probabilité de séquence seches de 20 jours était inférieure à 20% à la station de Bohicon, Savè, Cotonou et Kandi. Il a également été précisé que dans la station de Parakou et natitingou, la probabilité de période sèche de 15 jours ou deux semaines a été atteinte d'environ 30% en juillet. Cependant, la probabilité d' occurrences de 10 jours, 15 jours et 20 jours étaient inférieurs à 8%. Une séquence sèche de plus de 4 jours constitue un risque de rendements plus faibles du maïs, en particulier pendant la phase de croissance où il pourrait atteindre le point de flétrissement.

**Mots clés:** la probabilité, déficit de pluie, la phase de croissance, le point de flétrissement, Bénin.

**ABSTRACT**

The deficit of last decade rain in West Africa and particularly in Benin pushes us to make the analysis of tendencies of the dry sequences of the tabular stations from daily raining data. The general objective of this survey is the research of probability of the dry sequence sets in the period from 1970 to 2018 from daily raining data of the tabular stations of Benin. We have extract of data daily raining of six stations synoptique of Benin,

in the period from 1970 to 2018 from daily raining data of the tabular stations of and we analyzed the variation of the probability of length of dry sequences with markov chain model on the period from 1970 to 2018 to raining data of the tabular stations . We determined the critical duration of the dry period analysed his impact of lower yields of maize especially during the heading phase. From the results, we can retain the probability of dry spell length of 5 days was about 75%. The probability of dry spell length of two weeks was also more than 20%. On the other hand, the probability of dry spell length of 20 days was below 20% maxima of dry sequence length to the station of Bohicon, Savè, Cotonou and Kandi. It has been also clarified that in parakou's and natitingou's station, the probability of dry spell lengths of 15 days or the two weeks has been reached about 30% in July. However, the probability of the occurrences of 10 days, 15 days, and 20 days were fall below 8% in August. A dry sequence of more

than 4 days constitutes a risk of lower yields of maize especially during the heading phase where it could reach the wilting point.

**Keywords:** The deficit of rain, the probability, the heading phase, the wilting point, Benin

## Introduction

In the current context of climate change, even if the entire scientific community agrees on the reality of a climate change and on future global warming, it still sometimes remains to distinguish between a real change and the natural climate variability. Precipitation is the oldest and most commonly recorded climate variable. For these reasons, they are a valuable indicator for studying climate change [1].

Indeed there are extreme dry events that occur even within the rainy seasons and that it is still too early to reduce to climate change, and it is more prudent at the present time to consider them as interannual climate variability. The observation of dry days in climatic zones is growing steadily. While most authors agree in recognizing the potential role of climate in environmental degradation phenomena, the climate trend is not always easily perceived and remains controversial [2].

The drought observed since 1970 in West Africa and particularly in Benin has less severe and less damaging consequences in more equatorial regions such as Benin [3]. The drop in rainfall is a strong and obvious signal to the gradual onset of drought in a coastal country like Benin [4] and it is important to analyze the dry sequences within the rainy season with a view to understand their trend. Climate change issues have been at the center of the concerns of scientists and political decision-makers around the world for several years [5].

The great importance attached to climate change results from its immediate consequences on the hydrological cycle, the environment and socio-economic activities. Among the large-scale climatic events, we note the drought that has affected the two tropical bands of our planet. [10] Located in West Africa, Benin is one of the countries concerned.

The most dominant economic activities in rural areas of Benin are agriculture, animal husbandry and fishing. However, it is obvious that these activities require water control during the rainy season for their sustainability. It is currently observed that days without rain are more frequent in the rainy season [11].

These rainless days during the rainy seasons could negatively impact rain-fed agriculture which occupies the majority of the rural population of Benin. A good knowledge of these days without rain can make it possible to take the appropriate measures to limit the negative impacts on agricultural production.

The main cereal crop grown in the study area is mainly maize. Maize occupies a few small areas of the farming areas available to farmers in Benin. Maize is a crop with higher water requirements than millet and sorghum. He is possibly more feverish in the face of dry spells lasting 4 days with a risk of water stress. But it must be recognized that this is when speculation is heading and vulnerable to dry spells because it is the most restrictive phase of the growing cycle in terms of water requirements. The occurrence of dry or rainy episodes at certain key stages of the rainy season adversely affects the development of crop plants, which can prevent the plant from completing its entire vegetative cycle (Hachigonta, 2006) [7]. Significant dry sequences for each crop are factors that reduce agricultural yield.

The general objective of this study is to search for a breaking trend in the series of dry sequences over the period from 1970 to 2018 using rainfall data from synoptic stations in Benin.

The specific objectives are broken down into three objectives, namely:

- Analyze of dry spells with the Markov chain probability model
- and its implications on crop production in Benin, so as to minimize unexpected damage due to long dry spells;

In order to understand the change (variability) of the dry sequences of the regions of Benin and its impact on the environment and agriculture in Benin. This study of these climatic and agro-climatic parameters



and the preparation of climate information constitutes an action within the framework of adaptation to the phenomena of climate change and possibly the improvement of agricultural yields with a view to food security.

## 1. Material and methods

### 1.1 The data used

The data used in this work consist of daily rainfall readings from six synoptics stations in Benin. The data was made available by the Agence-Météo Bénin and (Agence pour la Sécurité de la Navigation Aérienne) ASECNA. The study variable is the length of consecutive dry days or dry sequences from the period 1970 to 2018. The positions selected obey criteria of continuity, duration of the information available and data quality. The choice of stations was also made in such a way as to allow the most homogeneous possible coverage of the study climatic zone [6]. The choice of the period 1970 to 2018 depends on the availability of data because there is generally a gap for most stations towards the end of the years 1952 which introduces a bias in the calculation of the statistical tests. In addition, it is with a view to analyzing the trend of dry sequences after the drought of 1970, the consequences of which are very worrying in the West African zone [4].

In order to search for trends in dry sequences, we extracted the dry sequence length per year and decade with Matlab programming software. The REMO model data to 2025 at 2100 of climate change project from the six synoptics stations in Benin is using to detect the dry sequence length per year and decade.

**Table 1:** Presentation of rainfall stations [data from aseana Benin]

Station	Longitude	latitude	Altitude (m)
Kandi	2°56'	11°08'	290
Natitingou	1°23'	10°19'	460
Parakou	2°36'	9°21'	392
Save	2°28'	8°20'	199
Bohicon	2°04'	7°10'	166
Cotonou	2°23'	6°21'	4

Figure 1 gives us a geographical overview of the measurement sites in Benin and Africa.



Figure 1: Geographical location of synoptic stations in Benin and their location in Africa.

## 2.2 Materials used

Two essential softwares were used to analyze climatological phenomena. These are Matlab and the R software. Matlab software has been used for data processing. To study the link between the maize yield in each agricultural region and the dry sequences we used the R software.

## 2.3 Methods

### 2.3.1 Parameter extraction methods

A rainy event  $j$  in a wet season  $i$  will be characterized by its duration  $D_{i,j}$ , symbolizing the number of rainy days and by the total height of accumulated rain  $h_{i,j}$  in  $d_{i,j}$  rainy days, in mm:

$$H_{i,j} = \sum_{k=1}^{D_{i,j}} (h_i) \quad (1)$$

Where  $h_i$  represents the total daily rainfall in mm with  $h_i > 0$ . To define the chronological position of a rainy event within the season of rains, we use an additional parameter which is the weather. In this contribution, the time between the end of a rain event and the start of the next rain event is the dry event or dry sequence  $Z_{ij}$  representing the number of days without rain between two consecutive rain events.

If  $Z_{ij}$  is assigned to the last event preceding the dry season, we have,  $Z_{ij} = 0$  for the last event of a season ( $j = N_i$ ). The number of dry events per season is therefore  $N_i - 1$ . The length of the dry sequences  $L_i$  is defined as the duration between the start of the first and the end of the last rainfall event of a given season, while the length of the hydrological year  $A_i$  is determined by the interval of time between the beginning of two subsequent wet seasons.

$$L_i = \sum_{j=1}^{N_i-1} (Z_{ij}) \quad (2)$$

Where  $L_i$  is the number of dry days or the length of dry stretches in days and  $N_i$  is the number of events in season  $j$ . To respond to our concern, we counted the maximum length of the dry sequences per year, then the average of the maximums over the period 1970 to 2009. The extracted parameters are shown in Figure 2.

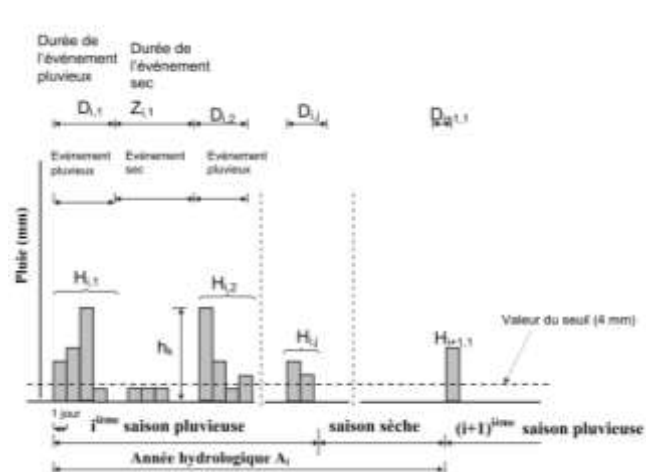


Figure 2: Representation of the parameters extracted by event [14]

### 2.3.2 The Markov chain probability model

The Markov chain probability model for the analysis of wet and dry periods was first introduced by Gabriel and Neumann (1957) using 27 years (1923-1950) rainfall data from November to April in Tel Aviv, Israel, considering the threshold of 0.1 mm (Gabriel and Neumann, 1957) [8]. The results were validated with chi square tests. Since then, Markov's process models have been widely used by many authors around the world. Therefore, this study aims to analyze the length of the maximum dry sequences and its implications for the cultivation and yield of maize in Benin, so as to minimize unexpected damage due to long periods of drought and to have effective planning for agriculture.

The Markov chain method was applied to determine the persistence of drought on a daily scale. Indeed given any day given dry data or not and preceded by a dry day or not, one may wonder what is the probability of having a dry day the following day or a wet day. The process expresses conditional probabilities of changing from the previous day's state to the current day's state. Thus the state of day  $t$  depends only on the state  $t-1$  for the Markov process of order 1. Eventually, it will depend on the states  $t-1$  and  $t-2$  for the Markov process of order 2 and the same logic is followed for the higher orders. The justification for the use of the Markov chain in this case is explained by the fact that the feedbacks of the earth-atmosphere system make it possible to admit that each new realization of an event at time  $t$  depends on previous realizations (Afouda., et al., 1997) [9]. It is therefore one statistical tool among many that makes it possible to calculate the probability of occurrence of an event at a given moment, knowing that it occurred the moment before. The determination of the probabilities of advent leads to consider precipitation as stochastic processes occurring randomly [12]. The establishment of a statistical

model is necessary for the application of Markov chains: It is defined according to the following relations:

– Consider a sequence of  $n$  consecutive days:

Let be  $x_i (i=1,2,3,4..)$  a series  $n$  random variables taking the values  $x_i = d$  (dry) and

$x_i = w$  (wet) . So for example  $x_2=d$  means that the second day of the sequence is dry and  $x_5=w$  means that the 5th day is wet.

-Let be  $P(x_1, x_2, x_3, x_4 \dots x_n)$  the probability that the sequence  $(x_1, x_2, x_3, x_4 \dots x_n)$  is realized that is to say that  $P(x_1)$  is the probability that the event of day  $n-1$  of the sequence will occur and so on up to order  $n$ .

– The application of the Markov property to order 2 leads to the following writing:

$$P(x_1, x_2, \dots, x_n) = P(x_1) \times P(x_2/x_1) \times P(x_3/x_2, x_1) \times \dots \times p(x_n/x_{n-2}, x_{n-1}) \quad (3)$$

This equation is used to calculate the different probabilities of combinations contained in the sequence. Thus to determine the state (rainy or dry) of a given day we will refer to the state of the two previous days. At order 3, logically the state of the previous three days will make it possible to predict the state of the day in question.

The 2<sup>nd</sup> order Markov chain will require the determination of the number of dry sequences of length greater than or equal to two days. As announced above, a dry sequence is automatically a time without precipitation or even with precipitation not reaching the threshold set for the study. The scoring will be adopted in the rest of the reasoning of the study:

-(**wd**) defined as a dry day preceded by a rainy day and its probability will be noted  $P_{wd}$

Thus the expression which will allow us to have the probability of having two dry days surrounded by rain is as follows:

$$P_{wddw} = P(d/dw) \times P(w/dd) \quad (4)$$

**$P(d/dw)$**  : the probability of having a dry day knowing that the day before it was dry and the day before wet;  **$P(w/dd)$** : The probability of having a rainy day knowing that the two days before were dry. It will be noted

$$q_2 \text{ and } q_2 = P(d/dw) \times P(w/dd) \quad (5)$$

The probabilities of having 3 days and 4 dry days framed by rain are respectively  $q_3$  and  $q_4$  are given by the following expressions:

$$q_3 = P_{wdd} = P(d/dw) \times P(d/dd) \times P(w/dd) = P_{wdd} \times P_{ddd} \times P_{ddw} \quad (6)$$

and

$$q_4 = P_{wdddw} = P(d/dw) \times P(d/dd) \times P(d/dd) \times P(w/dd) = P_{wdd} \times P_{ddd}^2 \times P_{ddw} \quad (7)$$

When we generalize, considering for  $n$  dry days, we obtain:

- For Markov chains of the 2<sup>nd</sup> order, the probability that a dry sequence lasts  $n$  day is given by the relation  $q_n$

$$q_n = (1 - P_{wdw})(1 - P_{wddw})^{n-2} (P_{wddw}) \quad (8)$$

- For Markov chains in order 3:

$$q_n = (1 - P_{wddw})(1 - P_{wdddw})^{n-3} (P_{wdddw}) \quad (9)$$

The different probabilities contained in the expression of the Markov chains of the second and 3<sup>rd</sup> order are calculated empirically:

$$P_{wddw} = \frac{\text{Number of sequence } wdw}{\text{Number of sequence } wd \dots} \quad (10)$$

$$P_{wddw} = \frac{\text{Number of sequence } wddw}{\text{Number of sequence } wdd\dots} \quad (11)$$

$$P_{wddd} = \frac{\text{Number of sequence } wddd}{\text{Number of sequence } wddd\dots} \quad (12)$$

Thus for empirical probabilities the probability that a dry sequence lasts  $n$  days is given by:

$$q_n = \frac{\text{number of } n \text{ dry spell}}{\sum_{i=1}^{30} \text{Number of } wd\dots dw} \quad (13)$$

- The distribution of the time remaining until the next defined dry sequence by the process is the same regardless of the time already spent in the initial state.

The only continuous random variable distribution having this property is the exponential distribution. This result allows us to describe a continuous-time Markov chain in an equivalent way as follows:

$$P(T_i \leq t) = 1 - e^{-qt} ; \forall t > 0 \quad (14)$$

The mathematical expectation is:

$$E[T_i] = \frac{1}{qn} \quad (15)$$

The approach consisted of identifying the dry sequences according to the criteria established above and performing the various calculations to highlight the probability distributions by station and agricultural area.

### 2.3 Critical dry period

Through the historical series of dry sequences formed, we extracted the stations that recorded dry sequences of more than 15 days during the period 1970-2018. Then we determined the critical time of decadal satisfaction of the water needs of the but during the rainy season where the dry period was observed as well as for the decade that follows it.

The critical duration of the dry period is the period of time that the ecosystem can fill. It is the ratio between the available soil moisture and the vegetation transpiration rate.

If the transpiration demand is greater than the amount of soil available humidity, the development of the plant will be hampered or, in the worst case, the plant will wilt.

The length  $T$  (days) of the critical dry period can therefore be calculated at each point in space as the ratio between the available soil moisture RFU (mm) and the potential evaporation ETm (mm day<sup>-1</sup>):

$$T = \frac{RFU(mm)}{ETm(\frac{mm}{day})} \quad (16)$$

The corresponds to the raw water requirements since it is considered that there is no water input, the available water will be just the RFU of the soil.

Having only the daily water requirements and the available water reserve, we calculate the time during which the plant will be able to benefit from the water by calculating the ratio between the RFU and the daily water with

$$ETm(mm/day) = Kc \times ETP \quad (17)$$

ETm: (mm per day) is the maximum crop water requirement,

Kc: crop coefficient;

ETP: (mm per day) the potential evapotranspiration and

$$RFU(mm) = p \times RU(mm) = p \times Zr(m) \times RU(mm/m) \quad (18)$$

RFU: the available water reserve,

P: drying factor

Zr: root depth (m)

RU: the available soil moisture (mm)

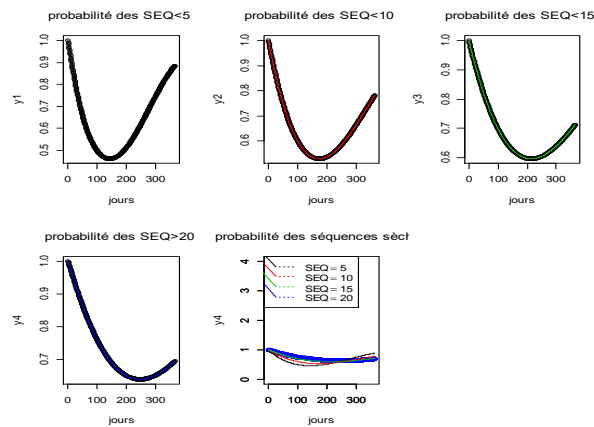
The crop coefficient ( $k_c$ ) and root depth for water balance calculations were applied to a 120 days variety of maize (Table 2), which corresponds to crop varieties commonly used by farmers in Benin.

### 3. RESULTS

#### 3.1 Analysis of the spatio-temporal variability of intra-seasonal dry sequences

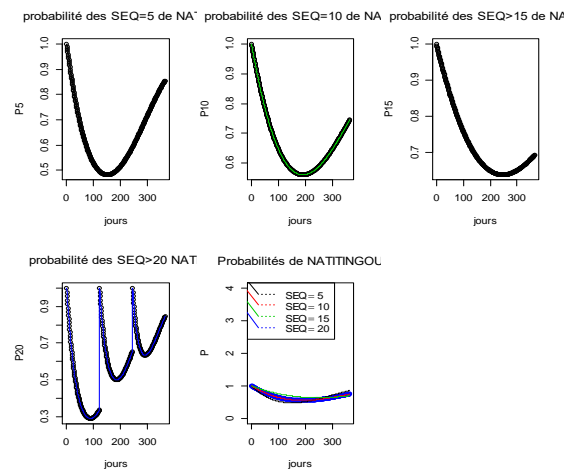
The spatio-temporal variability of intra-seasonal of dry sequences by each station are looking like that :

- **PARAKOU'S STATION**



**Figure 3:** Markov-Chain gtmmodel output of dry spells for Parakou

- **NATITINGOU STATION**



**Figure 4:** Markov-Chain model output of dry spells for Natitingou

- **BOHICON'S STATION**

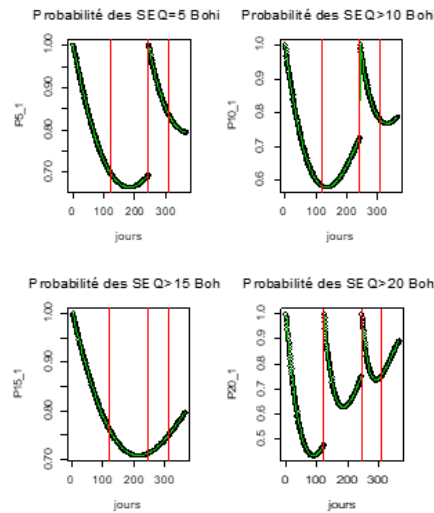


Figure 5 :Markov-Chain model output of dry spells for Bohicon

• COTONOU'S STATION

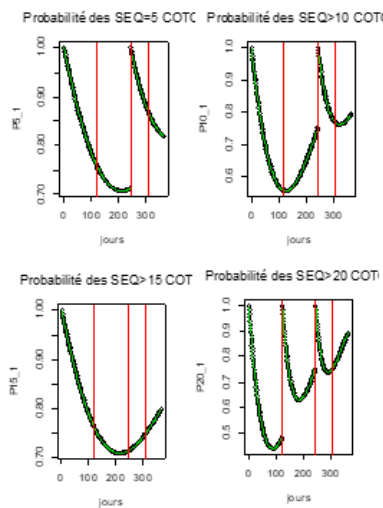


Figure 6 :Markov-Chain model output of dry spells for Cotonou

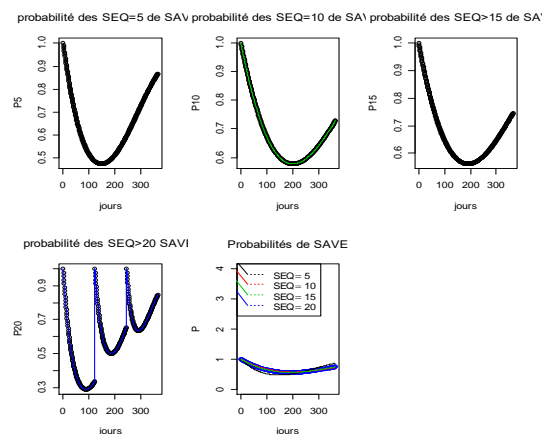


Figure 7: Markov-Chain model output of dry spells for Save

According to Barron [13], Markov model is able to analyze the agricultural dry spell lengths and respective risks. He reported that the probabilities of agricultural dry spell exceeding 10 days in East Africa varied from 20% to 90% or more depending on onset of rainy season. In general, this implies that

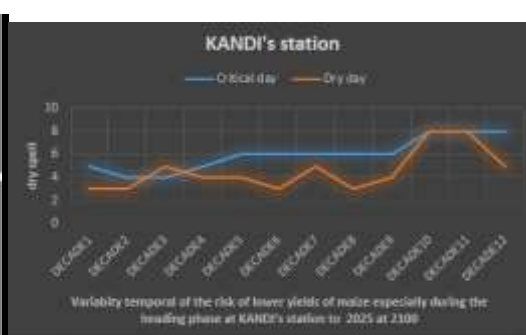
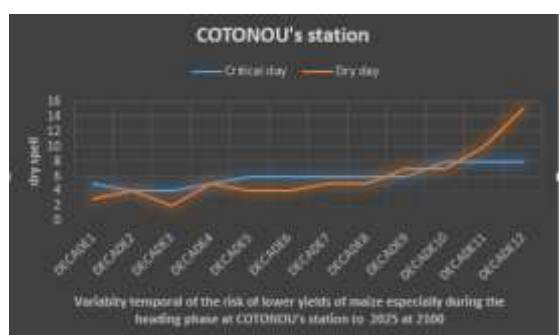
growing crops in the area was under high probability of risks, given the harsh climatic condition, very high rainfall variability in this area and food aids were given almost every year over the past three decades.

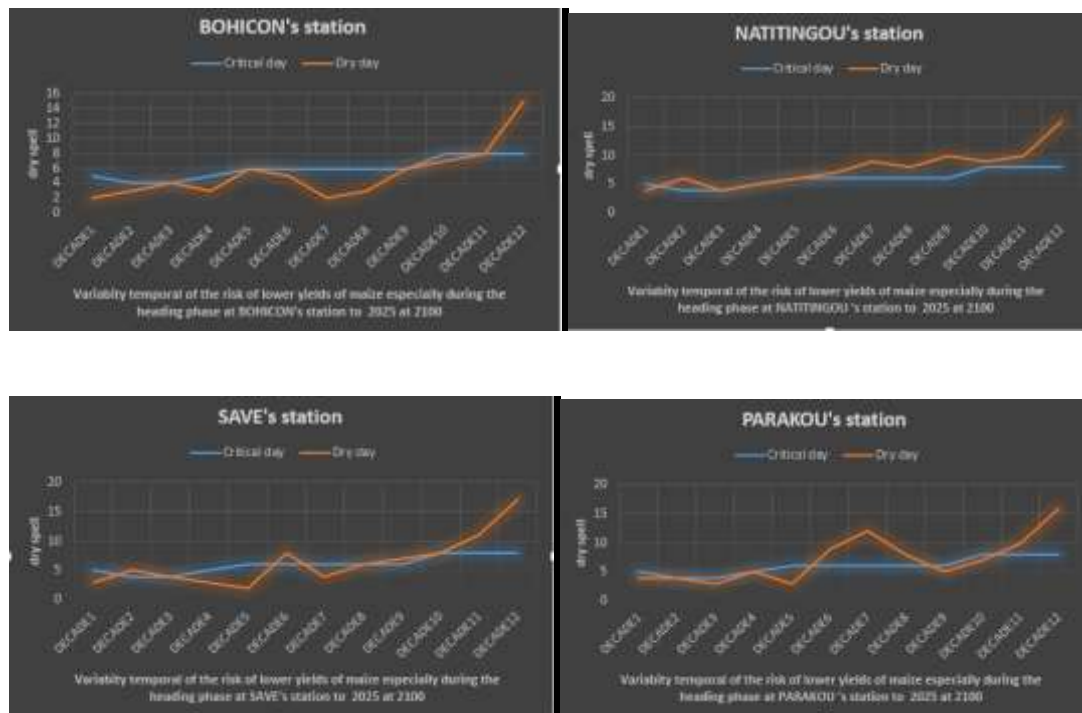
### 3.2- Impact of dry sequences on cereal crops (maize)

The Table 2 indicates that on sandy soils, the duration of the water stock is low and that after 4 days the RFU is completely exhausted. From this same table, we can conclude that a dry sequence of more than 4 days constitutes a risk of lower yields of maize especially during the heading phase where it could reach the wilting point.

**Table 2:** Calculation of the number of significant dry days for corn

Decade	May			Jun			July			August			September		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
<b>Mean (1970-2018)</b>	62.	66.	71.	57.	58.	54.	48.	48.	50.	41.	44.	49.	42.	49.	53.
<b>ETP</b>	5	9	9	7	8	4	6	9	1	4	4	9	8	3	8
<b>Kc</b>	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1
<b>Zr(m)</b>	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
<b>ETM (mm)</b>	72	77	82.	66.	67.	62.	55.	56.	57.	47.	51.	57.	49.	56.	61.
<b>RU (mm/m)</b>	55	55	55	55	55	55	55	55	55	55	55	55	55	55	55
<b>RU (mm)</b>	66	66	66	66	66	66	66	66	66	66	66	66	66	66	66
<b>p</b>	0.5	0.4	0.4	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.6	0.6	0.5	0.6	0.5	0.5
<b>RFU (mm)</b>	33	29.	29.	33	33	36.	36.	36.	36.	39.	39.	36.	39.	36.	36.
<b>ETM (mm/day)</b>	7.2	7.7	8.2	6.6	6.7	6.2	5.5	5.6	5.7	4.7	5.1	5.7	4.9	5.6	6.1
<b>T (days)</b>	5	4	4	5	5	6	6	6	6	8	8	6	8	6	6





**Figure 8 :** Variability temporal of the risk of lower yields of maize especially during the heading phase at synoptic's station to 2024 at 2025

#### 4- Discussion

The results of the study revealed that dry spell lengths of the considered days: (seq5) 5 days, (seq 10) 10 days, (seq 15) 15 days and (seq 20) 20 days varies from place to place over the study areas of Parakou, Save, Natitigou, Bohicon, and Cotonou. In line with this, the impacts caused due to the dry spell lengths also varies. Even during themain rainy season of Benin: June, July, August and September (JJAS), the probability of dry spell length of 5 days was about 90%. The probability of dry spell length of two weeks was also more than 20%. On the other hand, the probability of dry spell length of 20 days was below 20% (Figures 3, 4, 5, 6 and 7). On the other hand, in Cotonou, Bohicon, Save stations the probability of dry spell length of 5 days was found to be 85% during 181 days of the year (1st decade of June),then it declined to below 50 % by 221 day of the year (3<sup>rd</sup> decade of July) . Beginning from 223 days of the year, the probability that the area faced dry spell length of 5 days had been increased up to 100% by 301 days of the year (3rd decade of September). It hasbeen also clarified that in parakou's and natitingou's station, the probability of dry spell lengths of 15 days or the two weeks has been reached about 30% in July. However, the probability of the occurrences of 10days, 15 days, and 20 days were fall below 8% during the main rainy season of the areas, JJAS. This is the critical time for planting crops. Thus, the crops in the area might be influenced due to the high occurrences of the dry spell lengths of 5 days than any other dry spell lengths occurrences.

The impact of its dry events on the development of crops is appreciable depending on the vegetative cycle during which the dry period occurs.

A dry sequence greater than 4 days was considered significant for maize. These long-lasting dry sequences have a fairly low probability of occurrence (<5%). Short-lived dry spells have the highest probability values (> 30%) but are harmless to crops.



## CONCLUSION

This analysis of the frequency distribution of dry episodes in Benin's synoptic stations shows that short-term dry episodes (< 5 days or between 5 and 10 days) are the most frequent. Prolonged dry sequences (10 to more than 20 days) are almost absent at most of the stations studied and rarely intervene (1 to 2 years out of 15). From the results, we can retain the probability of dry spell length of 5 days was about 75%. The probability of dry spell length of two weeks was also more than 20%. On the other hand, the probability of dry spell length of 20 days was below 20% maxima of dry sequence length to the station of Bohicon, Savè, Cotonou and Kandi. It has been also clarified that in Parakou's and Natitingou's station, the probability of dry spell lengths of 15 days or the two weeks has been reached about 30% in July. However, the probability of the occurrences of 10 days, 15 days, and 20 days were fall below 8%. A dry sequence of more than 4 days constitutes a risk of lower yields of maize especially during the heading phase where it could reach the wilting point. We note a risk of lower yields of maize at KANDI'S station at third decade ;to 7th decade at 10th at NATITINGOU'S station ; at seconde decade and 6th decade at PARAKOU'S station ;to decade 6 at SAVE'S station.

## REFERENCES

- [1]- Dion K., Slivitzky M., Saïd M. et Favre A.C., 2009. Analyses des ruptures et des tendances dans les écoulements annuels observés et simulés par le MRCC en climat actuel (1961-1999) pour les 21 bassins versants de la péninsule Québec/Labrador. Rapport de recherche No R1069 INRS-Eau, Terre et Environnement. p.456.
- [2]- Gohoungossou S.B., (2013): Etude de l'impact de la variabilité climatique sur l'évolution du régime du fleuve Ouémé, p.142.
- [3]- Masson Jean-Marie, Lubès Hélène, 1995 : « Manifestations de la sécheresse en Afrique de l'ouest non sahélienne cas de la côte d'Ivoire, du Togo et du Bénin », *Sécheresse journal*, n°1, vol 6, (p.p 95-102).
- [4]- Mann, H. B. et D. R. Whitney (1947). On the test of whether one of two Random variables is stochastically larger than the other. *Ann. Math. Statist.*, 18 : pp. 50-60.
- [5]- B. Bobée et Faucher D., T. B. M. J. Ouarda (1997). *Revue Bibliographique des Tests de Stationnarité*. Québec, I.N. R. S. -Eau, 66, pp.23-45
- [6]- Lawin Agnidé Emmanuel, 2007 : « Analyse climatologique et statistique du régime pluviométrique de la haute vallée de l'ouémé à partir des données pluviographiques AMMA-CATCH Bénin. » Thèse en cotutelle internationale de l'INP Grenoble, France et de l'Université d'Abomey-Calavi, Bénin (p. 231).
- [7]- Hachigonta S., (2006). Interannual variability in dry and wet spell characteristics over Zambia. *Climate Research*, pp. 49-62.
- [8]- Gabriel, K.R. and Neumann, J. 1957. On a distribution of weather cycles by length. *Quarterly Journal of the Royal Meteorological Society* 83: 375-380.
- [9]- Afouda, A. (1990). On the stochastic structures of precipitation processes. In: *Water for Life* (Proc. Silver Jubilee Int. Centre of Hydrol. Dino Tonini, Univ. Of Padova, Italy), 57-71.
- [10]- Ali A. and Lebel T., 2009: Recent trends in the Central and Western Sahel rainfall regime (1990-2007). *Journal of Hydrology*, 375, pp. 52-64.
- [11]- Balme Maud, Lebel Thierry et Amani Abou, 2006 : « Années sèches et années humides au Sahel ». *Journal des sciences hydrologiques*, 51(2). pp. 256 à 271. pp37.
- [12]- Fode M., Adamou O. M., 2008 : « Analyse des séquences sèches au Niger de 1950 à 1991 » Thèse de Doctorat de l'Université Abdou Moumouni, Niamey, Niger. p 223.
- [13]- Barron, J., Rockstrom, J., Gichuki, F. and Hatibu, N. 2003. Dry spell analysis and maize yields for two semi-arid locations in east Africa. *Agricultural and Forest Meteorology* 117: 23-37.

[14]- Majid M.et Fethi L., 2007 : « Analyse des périodes sèches pour la gestion d'un barrage au Nord de la Tunisie ». Proceeding of symposium. HS2004 at 14GG2007, Perugia, IAHS Publ, 313.pp. 487-496.

[15]- Sivakumar, M. 1992. Empirical analysis of dry spells for agricultural applications in West Africa. *Journal of Climate* 5: 532-539

[16]-Afouda, A., & Adisso, P. (1997, Avril). Etude Stochastique des structures de séquences sèches au Bénin. *Sustainability of Water Ressources under Increasing Uncertainty* (pp. 43-50). IAHS Publ. n°24.

**PLANT-BASED PROTEINS AND THEIR USAGE IN THE FOOD INDUSTRY**  
**BİTKİ BAZLI PROTEİNLER VE GIDA ENDÜSTRİSİNDE KULLANIMLARI**

**Gamze Nur OLGUN<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Tokat Gaziosmanpasa University, Faculty of Engineering and Architecture, Food Engineering Dept.,  
Tokat, TURKEY*

<sup>1</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7046-8341>*

**Izzet TURKER<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>*Tokat Gaziosmanpasa University, Faculty of Engineering and Architecture, Food Engineering Dept.,  
Tokat, TURKEY*

<sup>2</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0107-1962>*

**Hilal ISLEROGLU<sup>3</sup>**

<sup>3</sup>*Tokat Gaziosmanpasa University, Faculty of Engineering and Architecture, Food Engineering Dept.,  
Tokat, TURKEY*

<sup>3</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4338-9242>*

**ABSTRACT**

Proteins are vital components for human diet and they are mainly provided from animals and dairy products. The increasing population of the world, low sustainability, negative health impacts, low affordability of meat products and ethical issues about animal welfare made researchers to seek for alternative protein resources. Hence, plant-based proteins have been intensely studied as alternative protein resources due to their health benefits, functional and nutritional properties, and positive environmental impacts. Plant-based proteins can be used for treating some diseases such as cardiovascular disease and type-II diabetes, and lowering the risk of colorectal cancer. Plant-based proteins also take place in the diet of vegan and vegetarian people to meet their amino acid needs. The proteins derived from plants can also be used in the food formulations because of their foaming, emulsifying, water and fat absorbing and gelling abilities. There are many kinds of resources to obtain plant-based proteins and they are abundant in nature and in the market. Legumes, seeds, cereals and pseudo-cereals are the common resources of plant-based proteins. In addition, by-products of crop and oil industries, wheat bran, defatted wheat germ, rapeseed cake, flaxseed meal and vegetable/fruit wastes such as leaves and pulps are used as cheap sources to isolate plant-based proteins. In this review, the nutritional aspects, health benefits and usage of the plant-based proteins in the food industry were discussed. Moreover, the opportunities and the obstacles for the production and the market strategies of plant-based proteins were revealed.

**Keywords:** plant-based proteins, functional properties, vegan nutrition, health benefits

**1. INTRODUCTION**

The world population is increasing day by day and it is expected to be more than nine billion people by 2050 (Sim et al., 2021). Human nutrition is going to be challenging unless necessary precautions are taken. The increasing demand for food and nutrition can be met by exploration of new sources. One of these strategies to overcome this problem can be the production of plant-based products because of their nutritive properties and health benefits. Moreover, consumers are seeking for the healthy and sustainable diets to increase their life quality, and people are trying to reduce their meat-based food intake. Accordingly, plant-based products and meat alternatives have a great potential for the future of human diet and the food industry.

Plants have been always important products for human diet because of their valuable primary and secondary metabolites (Langyan et al., 2022). Carbohydrates, proteins and fats are the most important primary metabolites found in the plants and these metabolites are essential for human diet. Among these primary metabolites, protein is the building block of all life and has significant effects on human health. Proteins can be defined as the one or more chains of amino acids linked with peptide bonds and they have different kind of structural and functional properties due to their amino acid composition and molecular size (Arif and Pauls, 2018). Even though animal proteins are considered as the best choice for the meeting protein requirements of human diet, diseases based on meat consumption and health-compromising aspects of animal-based products made people to seek for alternative protein resources. Plant-based proteins can be used as a replacement for animal-based proteins because of their low-cost, abundance and being harmless for human health.

In this review, the nutritional aspects and health benefits of various plant-based proteins were discussed. Moreover, the usage of plant-based proteins in the food industry based on their physicochemical and functional properties was examined. In addition, opportunities and barriers to the production and market strategies of plant-based proteins were presented.

## 2. CLASSIFICATION AND NUTRITIONAL ASPECTS OF PLANT-BASED PROTEINS

The classification of plant-based proteins that derived from different kind of crops is shown in Figure 1. Plant-based proteins can be obtained from different kind of sources such cereals, legumes, oil seeds, nuts, pseudo cereals, tubers, fruits and vegetables (Iqbal et al., 2006; Muzquiz et al., 2012; Sun-Waterhouse et al., 2014; Lonnie et al., 2020). In literature, proximate analysis of these plants was carried out and significant amount of protein was found.

Cereals are considered as valuable food products and they mainly consumed for their starch and fiber contents. On the other hand, cereals have protein and some cereals' protein contents were reported in literature. Magliano et al. (2014) searched the protein content of different size fractions of barley, and they reported protein contents of different samples of barley as 6.8 to 13.4%. The samples having low grain size had higher protein content. Oat is also considered plant-protein source. Sterna et al. (2016) revealed the biochemical composition of oat grains and depending on varieties, protein content of oat grains ranged between 9.7 and 17.3%. Corn is one of the most consumed food products all over the world, and corn protein mainly located in germ and endosperm. Anderson and Lamsal (2011) reported that 9-12% protein was found in corn kernel and half of this amount of protein was zein. Rice is mostly consumed because of its rich starch content. However, rice contains 7-9% protein and rice protein concentrate having 80% protein is industrially produced (Day, 2013). Wheat also has 8 to 15% protein content depending on its variety, and gluten is the main protein in wheat grains (Wrigley, 1996).

Legumes are other important sources of plant-based proteins. Iqbal et al. (2006) determined the proximate composition of grain legumes such as chickpea, cowpea, lentil and green pea. Researchers revealed that the crude protein percentage (g protein in 100 g legume) of the chickpea as  $24.0 \pm 0.30$ , cowpea as  $24.7 \pm 0.10$ , lentil as  $26.1 \pm 0.09$  and green pea as  $24.9 \pm 0.03$ . These legumes were reported as good sources of crude protein. Fenugreek seeds have also remarkable amount of protein. Srinivasan (2006) reported the protein content of fenugreek seeds as 30g/100g seeds. Naidu et al. (2011) also reported the protein content of fenugreek seed endosperm as 43.8%, and they stated that fenugreek fractions could be used as valuable food additives. Lupin is another promising plant-based protein source. Shrestha et al. (2021) reviewed the studies about lupin proteins, and they reported the protein content of different varieties of lupin in the range of 33-55% on dry weight basis. Soybean is considered as the one of the most important plant-based protein sources all over the world. The crude protein content of soybean on a dry basis is approximately 40% and globulins are the primary type of proteins present in soybeans. Pea protein is also referred as a replacement for animal proteins, and pea protein varieties contained 13-38% protein on dry weight basis (Daba and Morris, 2022).

Oilseeds are important products for the food industry because of their high oil content, and they are frequently used in human nutrition for different purposes. Oilseeds contain at least 15% oil, and they can be considered as good sources of plant-based proteins (Kotecka-Majchrzak et al. 2020). One of these oilseeds is flaxseed and flaxseed is also known with its high-quality protein. The protein content of whole flaxseed grains was reported as 23%, and the protein content of defatted flaxseed meal was 38.9%

(Oomah and Mazza, 1994). In general, defatted oil seeds' protein content ranged between 35 and 60% (Moure et al., 2006). The protein content of the cottonseeds, rapeseeds and sunflower seeds was reported as 22-24%, 18-22% and ~20% (Žilić et al., 2010; Balalić et al., 2017; Kumar et al., 2021). Nuts are also known with their high-quality oils and they also have proteins that can be used in the food industry. Almond, cashew, peanut, pistachio and walnuts were reported as good sources of plant-based proteins (Langyan et al., 2022).

Pseudo cereals' nutritional value mainly depend on their proteins having physicochemical functions. The protein content (g protein in 100 g pseudo cereal) of amaranth, buckwheat and quinoa was reported as 13.5±0.2, 13.1±0.1 and 14.2±2.4, respectively (Mota et al., 2016). Mota et al. (2016) revealed that the protein contents of the pseudo cereals were higher than that of rice (6.7g/100g). Sandoval-Oliveros et al. (2013) reported the protein amount of chia seeds as 22.7±0.7 g protein in 100 g dry seeds and chia is presented as a good alternative protein source for the food industry because of its remarkable level of protein. Mir et al. (2018) reported that the consumption of pseudo cereals in human diet had been increased due to their nutritional profile in the last decade.

Tubers such as potato have also taken interest by researchers so far, and it was reported that a medium sized potato (~150g) contained 4 g of protein. Even though having lower protein than that of cereals, legumes or oil seeds, potato protein has high quality because of containing all nine of amino acids, which makes potato protein as 'complete protein' (Beals, 2019). Plant-based protein also obtained from fruit pulps, vegetable residuals, oil meals, press cakes and by-products of cereals and by-products of legume processing (Langyan et al., 2022).

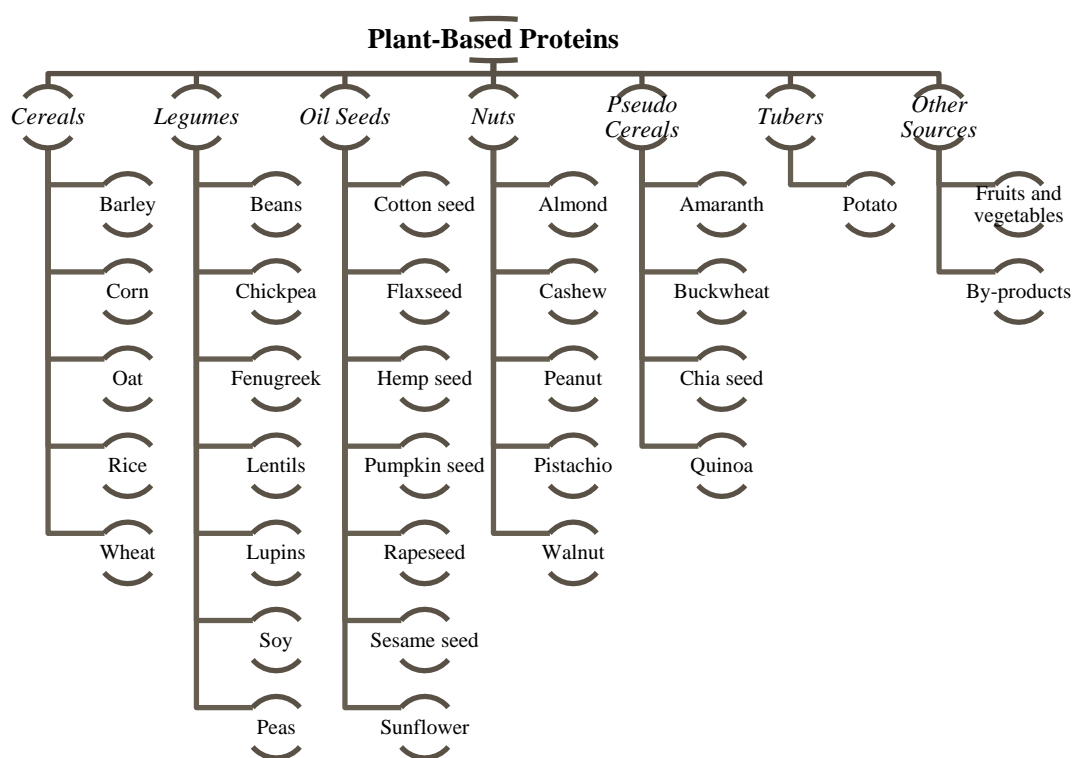


Figure 1. Sources of the plant-based proteins (Langyan et al., 2022)

### 3. HEALTH BENEFITS OF PLANT-BASED PROTEINS

Plant-based proteins are object of interest for consumers that seeking healthy diet because of their different kind of health benefits reported in literature. Different plant-based proteins may have different positive health effects. Plant-based proteins have potential to reduce cardiovascular disease risks. Li et al. (2017) reported that consumption of plant-based proteins instead of animal protein reduced the risk factors linked with cardiovascular diseases. In another study, it was concluded that consumption of plant-based proteins (soy proteins, nuts/seeds and whole grains) instead of animal proteins lowered the blood pressure of patients having hypertension (Wang et al., 2008). He et al. (2005) studied the effect of soybean protein on blood pressure, and they reported that systolic and diastolic blood pressure of

patients were reduced by increased intake of soybean proteins. Plant-based proteins also have impact on reducing Type-II diabetes risk. Malik et al. (2016) revealed that when only 5% of energy intake was substituted with vegetable proteins instead of animal proteins, the risk of Type-II diabetes was 23% reduced. Substitution of plant-based proteins with animal proteins may also reduce colorectal cancer risk (Andersen et al., 2019). In addition to this finding, Lima et al. (2016) reported that soybean, lupin and chickpeas protein extracts had ability to inhibit cell migration in colon carcinoma cells.

Antioxidant peptides that are produced from plant-based proteins are new era of the food industry. Free radicals producing oxidant can reduce the shelf-life of food materials and cause some diseases such as diabetes, Alzheimer, cancer and heart attack (Rajapakse et al., 2005). Instead of synthetic antioxidants, the usage of antioxidants obtained from plant-based proteins is becoming popular because of their low cost, positive environmental impacts and sustainability (Wen et al., 2020). To produce bioactive peptides from plant-based proteins, enzymatic hydrolysis is the most widely used method (Liu et al., 2022). Peptide fractions of oat bran protein, rapeseed, amaranth, quinoa, chia seeds, olive residues showed antioxidant activities (Esteve et al., 2015; Zhang et al., 2008; Esfandi et al., 2019; Grancieri et al., 2019; Mudgil et al., 2019). Many other plant-based proteins are being researched because of their bioactive peptide potential. In addition to their antioxidative effects, peptide fractions obtained from plant-based proteins can also have antihypertensive properties, antitumoral properties and ACE inhibition activities. Positive health effects associated with different plant-based proteins and peptides are shown in Table 1.

**Table 1.** Health effects associated with plant-based proteins

Source	Type	Health effect	Reference
Flaxseed	Protein isolate	Improving cardiac health	Kaushik et al. (2016)
Sweet lupin seed	Protein isolate	Cholesterol lowering activity	Arnoldi et al. (2015)
<i>Moringa oleifera</i> seed	Protein isolate	Antioxidant activity	Aderinola et al. (2018)
Chickpea	Peptide fraction	Antihypertensive and antioxidant	Yust et al. (2003)
Sunflower	Peptide fraction	ACE inhibition	Megías et al. (2004)
Sesame seeds	Protein hydrolysate	ACE inhibition	Nakano et al. (2006)
Fenugreek seed	Protein hydrolysate	Antioxidant activity	Kaveh et al. (2022)

#### 4. USAGE OF PLANT-BASED PROTEINS IN THE FOOD INDUSTRY

Plant-based proteins are used in different food formulations due to their different functional and physicochemical properties. Moreover, plant-based proteins can be used as supplements in food products. One of the most preferred plant-based proteins in the food industry is soybean protein. Xu et al. (2018) used soybean protein isolate for film packaging of fresh-cut apples. They mixed soy protein isolate with biological glycerol-based polyester and researchers reported that soybean protein isolate films extended the shelf-life of fresh-cut apples at least 23 days when compared with control samples. Ismail et al. (2020) notified that soybean protein was one of the best choices for the production of meat analogs because of being cheap and meat-like texture properties. Other plant-based proteins obtained from cereals, oil seeds and pseudo cereals are also used in different food formulations. Yadav et al. (2014) used rice bran protein concentrate to produce protein enriched biscuits. They replaced rice bran protein concentrate with wheat flour at 5, 10 and 15% levels. According to the results, fracture strength of the biscuits supplemented with 15% rice bran protein was increased when compared with control, and desirable overall acceptability was determined when 10% of rice bran protein was used. Shchekoldina and Aider (2014) used sunflower meal protein isolate to produce functional bread. Bread samples having 10% supplementation of sunflower meal protein isolate (replaced with wheat flour) showed higher mass volume and nutritional aspects than that of control samples. Bučko et al. (2015) investigated the solubility and emulsifying properties of pumpkin seed protein isolate. Researchers revealed that stable emulsions were created at pH 8.0 using pumpkin seed protein isolate, and this aspect

of the pumpkin seed protein isolate revealed its potential to be used as a natural emulsifier in the food industry. In another study, soy and pea proteins were used for the encapsulation of the essential oil of orange (Francisco et al., 2020). Orange essential oil was entrapped and stabilized using oil-in-water emulsions, and spray-dried particles of the emulsions were generated. Both emulsions created with soy and pea proteins were successful in the encapsulation of orange essential oils with high retention values (>84%). The potential of plant-based proteins as emulsifiers emphasized. López-Alarcón et al. (2019) used quinoa protein isolates in cupcakes and they aimed to determine the structure and stability of the modified cupcakes. It was reported that quinoa-added cupcakes had higher storage stability in terms of microbial growth, higher sensory properties and better textural properties than that of unmodified cupcakes.

## 5. OPPORTUNITIES, OBSTACLES AND MARKET STRATEGIES FOR PLANT-BASED PROTEINS

Plant-based products can be valuable for both vegetarians and traditional consumers. It is possible to produce meat analogs and the demand for the meat-like products will create a great market opportunity. On the other hand, consumer acceptancy, production costs and functionality of the plant-based proteins should be deeply investigated to achieve success. It also should be noted that plant-based proteins can not be totally replaced with meat proteins because of the organoleptic characteristics and consumer choices. Plant-based proteins can be used as alternatives, and their potentials should not be thought as a full replacement with meat proteins and meat products. There are also some health concerns about plant-based proteins. Antinutrients of the plant-based proteins and allergenicity are the main concerns. Antinutrients can be removed by some techniques such as soaking, gamma irradiation and fermentation (Popova and Mihaylova, 2019). For allergenicity, labelling should be precisely done and consumers should be warned for possible risks. Plant-based proteins have remarkable health effects, and their consumption on a daily diet would have healthy outcomes. However, consumption of plant-based proteins is not the only factor for having healthy life, people should understand and define their own eating patterns. Another subject about plant-based proteins is their functionality. Further researches about food production and development of novel/functional foods using plant-based proteins originated from different sources should be conducted. Plant-based proteins can be used as emulsifiers, thickening agents, foaming agents and binding materials. On the other hand, solubility of the plant-based proteins is relatively lower than animal proteins. So that, modulation of the functional properties of plant-based proteins should be done to use them in different food formulations. To enhance and rise the demand for plant-based proteins and products having plant-based proteins, scientific substantiations are needed. Hence, more studies should be presented about plant-based proteins and their aspects.

## 6. CONCLUSION

Many people having problems in their diet due to lack of protein. Plant-based proteins can be a cheap solution and an alternative for animal proteins. Plant-based proteins also have numerous health benefits, and this effect made them popular in the market. Moreover, because of their functional and physicochemical properties, plant-based proteins are frequently used in different food formulations. As long as consumers are aware of their need about nutrition and enhance their knowledge of the nutritional aspects about plant-based proteins, the consumption of the plant-based proteins will increase. There are many different sources for the plant-based protein production, and it should be emphasized all plant-based proteins do not have the same quality. Hence, more researches should be done about the quality of the plant-based proteins.

## 7. REFERENCES

- Aderinola, T. A., Fagbemi, T. N., Enujiugha, V. N., Alashi, A. M., & Aluko, R. E. (2018). Amino acid composition and antioxidant properties of Moringa oleifera seed protein isolate and enzymatic hydrolysates. *Heliyon*, 4(10), e00877.
- Andersen, V., Halekoh, U., Tjønneland, A., Vogel, U., & Kopp, T. I. (2019). Intake of red and processed meat, use of non-steroid anti-inflammatory drugs, genetic variants and risk of colorectal cancer: A prospective study of the Danish “diet, cancer and health” cohort. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(5), 1121.

- Anderson, T. J., & Lamsal, B. P. (2011). Zein extraction from corn, corn products, and coproducts and modifications for various applications: a review. *Cereal Chemistry*, 88(2), 159-173.
- Arif, M., & Pauls, K. P. (2018). *Properties of plant proteins*. In Plant Bioproducts; Chen, G., Weselake, R.J., Singer, S.D., Eds.; Springer: New York, NY, USA, 2018; pp. 121–142.
- Arnoldi, A., Boschin, G., Zanoni, C., & Lammi, C. (2015). The health benefits of sweet lupin seed flours and isolated proteins. *Journal of Functional Foods*, 18(Part A), 550-563.
- Balalić, I., Marjanovic-Jeromela, A., Crnobarac, J., Terzic, S., Radic, V., Miklic, V., & Jovicic, D. (2017). Variability of oil and protein content in rapeseed cultivars affected by seeding date. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 29(6), 404-410.
- Beals, K. A. (2019). Potatoes, nutrition and health. *American Journal of Potato Research*, 96(2), 102-110.
- Bučko, S., Katona, J., Popović, L., Vaštag, Ž., Petrović, L., & Vučinić-Vasić, M. (2015). Investigation on solubility, interfacial and emulsifying properties of pumpkin (*Cucurbita pepo*) seed protein isolate. *LWT-Food Science and Technology*, 64(2), 609-615.
- Daba, S. D., & Morris, C. F. (2022). Pea proteins: Variation, composition, genetics, and functional properties. *Cereal Chemistry*, 99(1), 8-20.
- Day, L. (2013). Proteins from land plants—potential resources for human nutrition and food security. *Trends in Food Science & Technology*, 32(1), 25-42.
- Esfandi, R., Willmore, W. G., & Tsopmo, A. (2019). Peptidomic analysis of hydrolyzed oat bran proteins, and their in vitro antioxidant and metal chelating properties. *Food Chemistry*, 279, 49-57.
- Esteve, C., Marina, M. L., & García, M. C. (2015). Novel strategy for the revalorization of olive (*Olea europaea*) residues based on the extraction of bioactive peptides. *Food Chemistry*, 167, 272-280.
- Francisco, C. R. L., de Oliveira Júnior, F. D., Marin, G., Alvim, I. D., & Hubinger, M. D. (2020). Plant proteins at low concentrations as natural emulsifiers for an effective orange essential oil microencapsulation by spray drying. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 607, 125470.
- Grancieri, M., Martino, H. S. D., & Gonzalez de Mejia, E. (2019). Chia seed (*Salvia hispanica* L.) as a source of proteins and bioactive peptides with health benefits: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(2), 480-499.
- He, J., Gu, D., Wu, X., Chen, J., Duan, X., Chen, J., & Whelton, P. K. (2005). Effect of soybean protein on blood pressure: a randomized, controlled trial. *Annals of Internal Medicine*, 143(1), 1-9.
- Iqbal, A., Khalil, I. A., Ateeq, N., & Khan, M. S. (2006). Nutritional quality of important food legumes. *Food Chemistry*, 97(2), 331-335.
- Ismail, I., Hwang, Y. H., & Joo, S. T. (2020). Meat analog as future food: A review. *Journal of Animal Science and Technology*, 62(2), 111-120.
- Kaushik, P., Dowling, K., McKnight, S., Barrow, C. J., Wang, B., & Adhikari, B. (2016). Preparation, characterization and functional properties of flax seed protein isolate. *Food Chemistry*, 197, 212-220.
- Kaveh, S., Mahoonak, A. S., Ghorbani, M., & Jafari, S. M. (2022). Fenugreek seed (*Trigonella foenum graecum*) protein hydrolysate loaded in nanosized liposomes: Characteristic, storage stability, controlled release and retention of antioxidant activity. *Industrial Crops and Products*, 182, 114908.
- Kotecka-Majchrzak, K., Sumara, A., Fornal, E., & Montowska, M. (2020). Oilseed proteins—properties and application as a food ingredient. *Trends in Food Science & Technology*, 106, 160-170.
- Kumar, M., Tomar, M., Punia, S., Grasso, S., Arrutia, F., Choudhary, J., ... & Amarowicz, R. (2021). Cottonseed: A sustainable contributor to global protein requirements. *Trends in Food Science & Technology*, 111, 100-113.



- Langyan, S., Yadava, P., Khan, F. N., Dar, Z. A., Singh, R., & Kumar, A. (2022). Sustaining protein nutrition through plant-based foods. *Frontiers in Nutrition*, 8, 772573.
- Li, S. S., Blanco Mejia, S., Lytvyn, L., Stewart, S. E., Viguiliouk, E., Ha, V., ... & Sievenpiper, J. L. (2017). Effect of plant protein on blood lipids: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of the American Heart Association*, 6(12), e006659.
- Lima, A. I. G., Mota, J., Monteiro, S. A. V. S., & Ferreira, R. M. S. B. (2016). Legume seeds and colorectal cancer revisited: Protease inhibitors reduce MMP-9 activity and colon cancer cell migration. *Food Chemistry*, 197, 30-38.
- Liu, W., Chen, X., Li, H., Zhang, J., An, J., & Liu, X. (2022). Anti-Inflammatory Function of Plant-Derived Bioactive Peptides: A Review. *Foods*, 11(15), 2361.
- Lonnie, M., Laurie, I., Myers, M., Horgan, G., Russell, W. R., & Johnstone, A. M. (2020). Exploring health-promoting attributes of plant proteins as a functional ingredient for the food sector: a systematic review of human interventional studies. *Nutrients*, 12(8), 2291.
- López-Alarcón, C. A., Cerdán-Leal, M. A., Beristain, C. I., Pascual-Pineda, L. A., Azuara, E., & Jiménez-Fernández, M. (2019). The potential use of modified quinoa protein isolates in cupcakes: physicochemical properties, structure and stability of cupcakes. *Food & Function*, 10(7), 4432-4439.
- Magliano, P. N., Prystupa, P., & Gutiérrez-Boem, F. H. (2014). Protein content of grains of different size fractions in malting barley. *Journal of the Institute of Brewing*, 120(4), 347-352.
- Malik, V. S., Li, Y., Tobias, D. K., Pan, A., & Hu, F. B. (2016). Dietary protein intake and risk of type 2 diabetes in US men and women. *American Journal of Epidemiology*, 183(8), 715-728.
- Megías, C., Yust, M. D. M., Pedroche, J., Lquari, H., Girón-Calle, J., Alaiz, M., ... & Vioque, J. (2004). Purification of an ACE inhibitory peptide after hydrolysis of sunflower (*Helianthus annuus* L.) protein isolates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(7), 1928-1932.
- Mir, N. A., Riar, C. S., & Singh, S. (2018). Nutritional constituents of pseudo cereals and their potential use in food systems: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 75, 170-180.
- Mota, C., Santos, M., Mauro, R., Samman, N., Matos, A. S., Torres, D., & Castanheira, I. (2016). Protein content and amino acids profile of pseudocereals. *Food Chemistry*, 193, 55-61.
- Moure, A., Sineiro, J., Domínguez, H., & Parajó, J. C. (2006). Functionality of oilseed protein products: A review. *Food Research International*, 39(9), 945-963.
- Mudgil, P., Omar, L. S., Kamal, H., Kilari, B. P., & Maqsood, S. (2019). Multi-functional bioactive properties of intact and enzymatically hydrolysed quinoa and amaranth proteins. *LWT-Food Science and Technology*, 110, 207-213.
- Muzquiz, M., Varela, A., Burbano, C., Cuadrado, C., Guillamón, E., & Pedrosa, M. M. (2012). Bioactive compounds in legumes: pronutritive and antinutritive actions. Implications for nutrition and health. *Phytochemistry Reviews*, 11, 227-244.
- Naidu, M. M., Shyamala, B. N., Naik, J. P., Sulochanamma, G., & Srinivas, P. (2011). Chemical composition and antioxidant activity of the husk and endosperm of fenugreek seeds. *LWT-Food Science and Technology*, 44(2), 451-456.
- Nakano, D., Ogura, K., Miyakoshi, M., Ishii, F., Kawanishi, H., Kurumazuka, D., ... & Matsumura, Y. (2006). Antihypertensive effect of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides from a sesame protein hydrolysate in spontaneously hypertensive rats. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 70(5), 1118-1126.
- Oomah, B. D., Mazza, G., & Cui, W. (1994). Optimization of protein extraction from flaxseed meal. *Food Research International*, 27(4), 355-361.
- Popova, A., & Mihaylova, D. (2019). Antinutrients in plant-based foods: A review. *The Open Biotechnology Journal*, 13(1), 68-76.

- Rajapakse, N., Mendis, E., Jung, W. K., Je, J. Y., & Kim, S. K. (2005). Purification of a radical scavenging peptide from fermented mussel sauce and its antioxidant properties. *Food Research International*, 38(2), 175-182.
- Sandoval-Oliveros, M. R., & Paredes-López, O. (2013). Isolation and characterization of proteins from chia seeds (*Salvia hispanica* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(1), 193-201.
- Shchekoldina, T., & Aider, M. (2014). Production of low chlorogenic and caffeic acid containing sunflower meal protein isolate and its use in functional wheat bread making. *Journal of Food Science and Technology*, 51, 2331-2343.
- Shrestha, S., van't Hag, L., Haritos, V. S., & Dhital, S. (2021). Lupin proteins: Structure, isolation and application. *Trends in Food Science & Technology*, 116, 928-939.
- Sim, S. Y. J., Sriv, A., Chiang, J. H., & Henry, C. J. (2021). Plant proteins for future foods: A roadmap. *Foods*, 10(8), 1967.
- Srinivasan, K. (2006). Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*): A review of health beneficial physiological effects. *Food Reviews International*, 22(2), 203-224.
- Sterna, V., Zute, S., & Brunava, L. (2016). Oat grain composition and its nutrition benefice. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 8, 252-256.
- Sun-Waterhouse, D., Zhao, M., & Waterhouse, G. I. (2014). Protein modification during ingredient preparation and food processing: approaches to improve food processability and nutrition. *Food and Bioprocess Technology*, 7, 1853-1893.
- Wang, Y. F., WS Jr, Y., Yu, D., Champagne, C., Appel, L. J., & Lin, P. H. (2008). The relationship between dietary protein intake and blood pressure: results from the PREMIER study. *Journal of Human Hypertension*, 22(11), 745-754.
- Wen, C., Zhang, J., Zhang, H., Duan, Y., & Ma, H. (2020). Plant protein-derived antioxidant peptides: Isolation, identification, mechanism of action and application in food systems: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 105, 308-322.
- Wrigley, C. W. (1996). Giant proteins with flour power. *Nature*, 381(6585), 738-739.
- Xu, Q., Cao, W., Xu, L., Liu, Y., Zhang, H., Yin, T., & Li, T. (2018). Mechanical property stability of soy protein isolate films plasticized by a biological glycerol-based polyester and application in the preservation of fresh-cut apples. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(12), e13829.
- Yadav, R. B., Yadav, B. S., & Chaudhary, D. (2011). Extraction, characterization and utilization of rice bran protein concentrate for biscuit making. *British Food Journal*, 113(9), 1173-1182.
- Yust, M. M., Pedroche, J., Giron-Calle, J., Alaiz, M., Millán, F., & Vioque, J. (2003). Production of ace inhibitory peptides by digestion of chickpea legumin with alcalase. *Food Chemistry*, 81(3), 363-369.
- Zhang, S. B., Wang, Z., & Xu, S. Y. (2008). Antioxidant and antithrombotic activities of rapeseed peptides. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 85, 521-527.
- Žilić, S., Barać, M., Pešić, M., Crevar, M., Stanojević, S., Nišavić, A., ... & Tolimir, M. (2010). Characterization of sunflower seed and kernel proteins. *Helia*, 33(52), 103-114.

## NUTRITION AND UNIVERSITY EDUCATION

*Jose A. R. Cembranos<sup>1</sup> and Irene Fernandez-Marcos<sup>2</sup>*

*Universidad Complutense de Madrid and IPARCOS  
Departamento de Física Teórica, Plaza de Ciencias 1,  
Facultad de Ciencias Físicas, 28040, Madrid, Spain.*

*<sup>1</sup>orcid: 0000-0002-4526-7396, <sup>2</sup>orcid: 0000-0002-7682-2882*

### ABSTRACT

Healthy nutrition should be a priority for the development of our society. Indeed, it has an important impact on the performance of university students. Different analyses have shown that feeding habits have direct consequences in mental capacity among such students. For instance, iron deficiency decreases dopamine transmission and has a negative impact on cognition. Deficiencies in vitamins, such as vitamin B, vitamin E, and thiamine, or minerals, such as iodine, and zinc, inhibit cognitive abilities and reduce mental concentration. We can conclude that there is strong evidence that improvements in the quality of nutrition habits positively influence the cognitive ability and intelligence of university students. On the contrary, different health problems and diseases related to lack of balanced diets, vitamin and mineral deficiencies, and forced modifications of lifestyle continue to pose challenges to an optimal education development. As a consequence of deficient nutrition, students face different functional problems that impact their educational performance, decreasing their productivity, and increasing the probabilities of developing different diseases. At present, one important feature to consider in university environments is related to the important diversity of students. The student community is made up of different cultures with different preferences of foods at times. Typically, the activity of education centers is scheduled taking into account three uniform meals without balanced diet options. In addition, students develop poor eating habits influenced by taste, appearance, or smell of food. Education centers should improve the quality and diversity of the food available for their workers and students. Nowadays, university students have an important nutrition knowledge. However, whether these students apply their knowledge to their diet is not well established. In this work, we discuss the main conclusions of our concrete study within the Universidad Complutense de Madrid, Spain. We focus on the nutrition habits of Complutense students and its correlation with different descriptors.

**Keywords:** nutrition, education, university, diversity, equality

### Introduction

This analysis is devoted to the nutrition habits associated with students at *Universidad Complutense de Madrid* (UCM). We study if such behaviours are influenced by different social or economic features and the mechanism of the university for improving healthier which role could the UCM play to promote more healthy and sustainable choices (Jose A. R. Cembranos I. F.-M., 2022).

Eating habits are the origin of major health problems in advanced countries (Vasanti S. Malik, 2013). Indeed, the World Health Organization (WHO) considers obesity and diabetes as epidemic. The relation between health and diet is well established. However, this knowledge in western societies has not yet been able to prevent those nutrition-related diseases (Margaret J Morris 1, 2015).

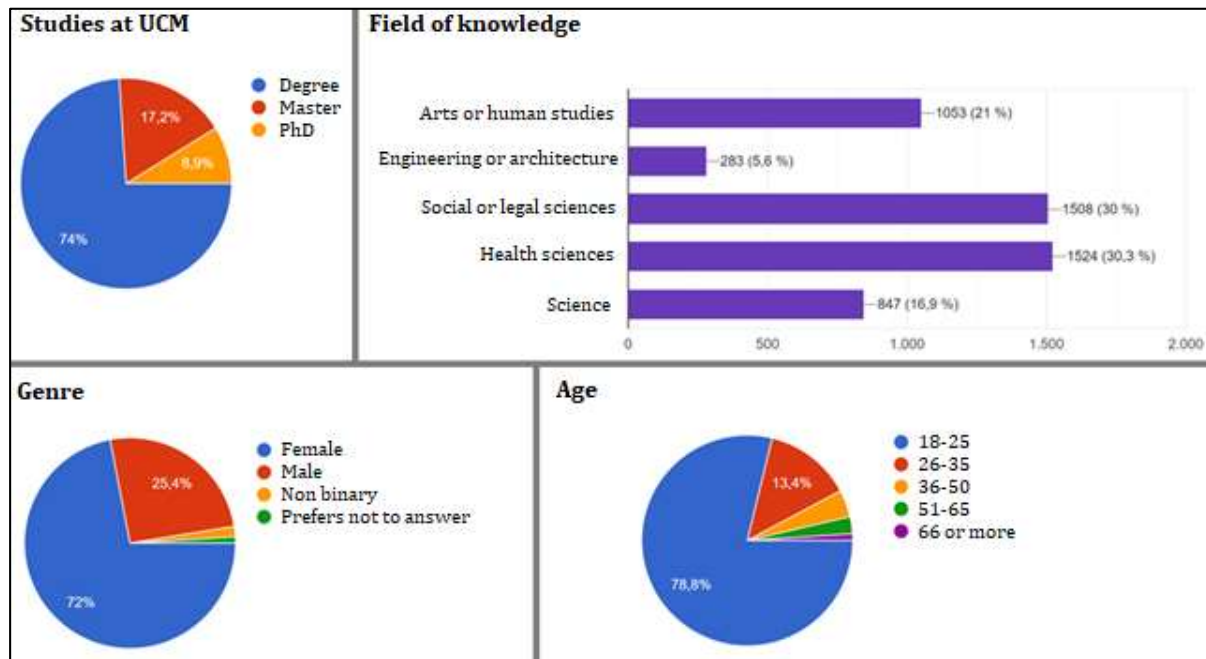


Figure 1: Student characterization.

Within a university context, it is important to consider changes in lifestyle. Typically, they have important impacts on the student habits and on their nutrition options. During their first year of university studies, weight gain has been reported. This effect has an important probability of being permanent and being consolidated through adulthood (Aaron P Crombie, 2009). The main reasons behind these unhealthy diets are due to environmental influences that need to be comprehended from a more global perspective (Amelia Lake, 2006). There is evidence for the influence of economic status, culture, education... Students at university claim their willingness to develop a healthier lifestyle, including better nutrition habits and a proper level of exercise (Israa Assaf, 2019).

### Materials And Methods

The main method to study the nutrition habits of UCM students has consisted in the use of questionnaires and surveys. The questions have been associated with diet composition, attitude towards the diet and the influence of the university environment on the student nutrition. The data were studied considering the circumstances and conditions of the subject. On the other hand, it has been defended the importance of the audiovisual communication in order to improve the diffusion of the information related to nutrition studies. In this sense, there is an important number of platforms and resources that are committed to an exchange of information and content for university students (Jose A. R. Cembranos C. A.-L.-O.-S.-V.-S., 2022).

### Research And Findings

The main features of the students who participated in our survey are summarized in Figure 1. It was answered by a majority (74%) of undergraduate students between 18 and 25. Different faculties are proportionally represented considering the offer of degrees at UCM. As it can be seen in Figure 2, food is mainly prepared at home, though students also consume ready-to-eat food and lunch service (15,1% and 21,6% of students take these options more than twice a week). Processed animal protein, legumes, and snacks are less consumed in comparison with animal protein, vegetables, and grains. Food is chosen mainly by flavour, but prices and health features are also important. On the contrary, aesthetics, time consumed, and logistics are not considered as determinant.

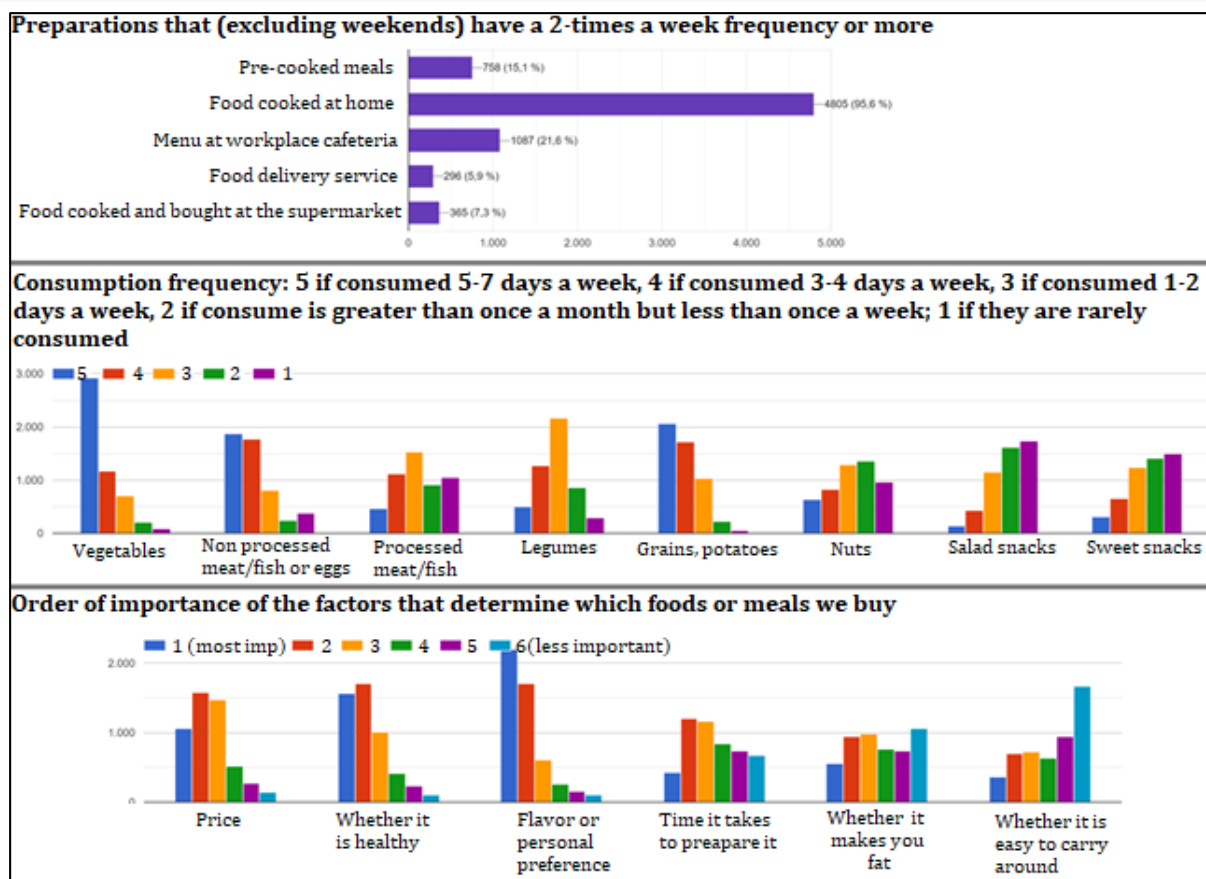


Figure 2: Diet composition.

As it is shown in Figure 3, the majority of the students (74.4%) claim to know what is a healthy diet. In fact, two thirds of the students answered that they would rather have a healthier nutrition and half of those considered it a priority. One third declared that they already have healthy nutrition habits. In the same way, a large portion of the students (84%) declared to have tried to modify their habits eventually. Of those, almost half of them had tried several times. A similar portion of them claimed to be successful on it. Environmental factors, such as lack of time, were pointed out as the main problems in order to develop a healthier diet. With respect to eating at the university campus, one third of the students answered to do it every week. The most frequent option was home prepared food, whereas the second one was the lunch service provided by the college canteen. The use of vending machines or nearby restaurants is minimal as one can see in Figure 4. These choices are made, according to the survey, considering price, quality, and time, in this order. It is interesting to note that the number of influencers giving nutritional advice and the number of nutritionists using media to spread their knowledge has increased during the last years (Byrne, 2017). However, it seems that this activity has not direct consequences in the diets of students. On the contrary, the survey shows that flavour or personal preference is the main factor that determines the diet. Health is the second factor, whereas price constitutes the third one.

On the contrary, the main reason for modifying nutrition habits is health and aesthetics. Two thirds of the students answered that they wanted to follow a healthier diet and half of those reported it as a priority. A large majority declared to try to change their diet, with one third of the students having tried it several times. Half of the students claimed to have been able to maintain these modifications, what establishes a clear contradiction with the conclusions reported in other studies (Chapman, 2010).

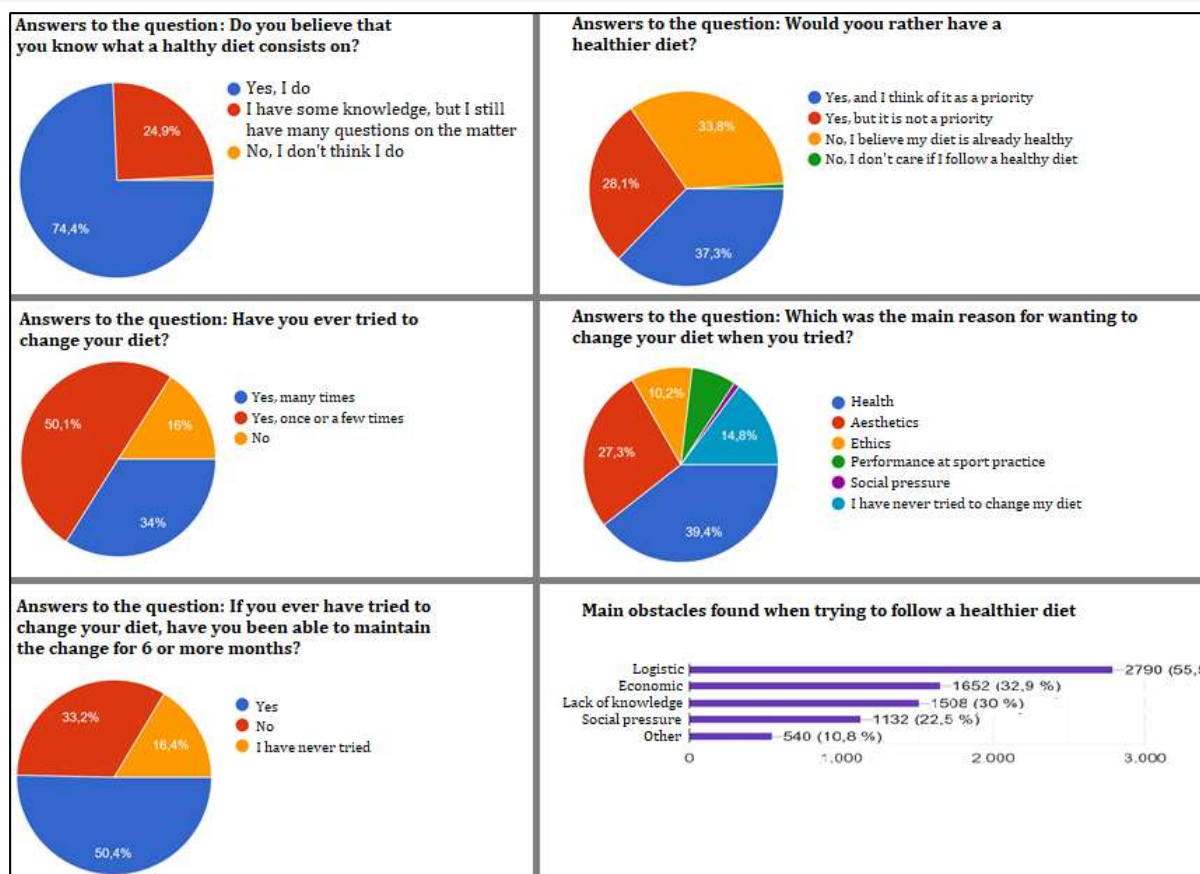


Figure 3: Attitude and diet modifications.

## Conclusion

The results of our survey show that main concern for establishing nutrition habits within the student sample under study is associated to health and aesthetics. At least, they determine the modifications of their diet. We would like to emphasize the importance of discriminate between these two factors, since they are confused in order to analyse the nutrition choices of the students. In addition, the design of a given diet needs to be attractive to the student. In the opposite case, the diet will not be followed. The relation between these descriptors constitutes a major challenge, since healthy alternatives compete against tasty options (Visioli, 2022).

On the other hand, education centres should play an important role in order to help workers and students to follow healthy nutrition habits. In particular, the UCM should require higher quality and diverse food in its canteens. It should provide nutritional education. This education could be offered in the form of specific monographies, but it could also consist of dedicated workshops or activities in the canteens or out of classes. In addition, and taking into account our results, it is interesting to provide information about shopping or cooking.

## Acknowledgments

This work was partially supported by POE-UCM 2022 project "*Análisis de movilidad sostenible y hábitos alimentarios saludables en el alumnado vulnerable de la Universidad Complutense de Madrid (CompluSalud)*", MICINN (Spain) project PID2019-107394GB-I00/AEI/10.13039/501100011033 (AEI/FEDER, UE), COST (European Cooperation in Science and Technology) Actions CA21106 and CA21136, Innova-Docencia-UCM 2022-2023 project "*Autoproducción de material audiovisual de libre acceso para la docencia universitaria (VisualClass)*", and ApS-UCM 2022-2023 project "*Fomento de vocaciones STEM en colectivos sociales infrarrepresentados (APSCONCIENCIA)*".

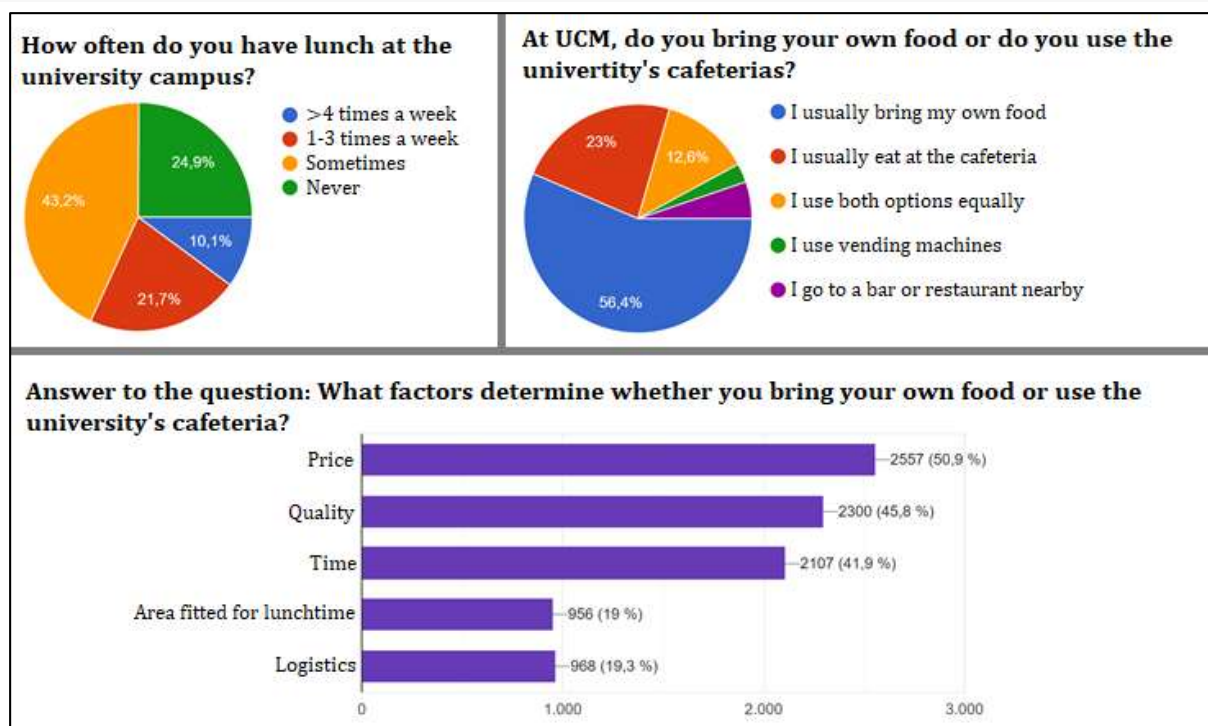


Figure 4: Eating on campus.

## REFERENCES

- Aaron P Crombie, J. Z. (2009). The freshman weight gain phenomenon revisited. *Nutrition Reviews*, 67, 83-94. doi:10.1111/j.1753-4887.2008.00143.x
- Amelia Lake, T. T. (2006). Obesogenic environments: exploring the built and food environments. *J R Soc Promot Health*. doi:10.1177/1466424006070487
- Byrne, E. K. (2017). The Role of Influencer Marketing and Social Influencers in Public Health. *Proceedings of the Nutrition Society*. doi:10.1017/S0029665117001768
- Chapman, K. (2010). Can people make healthy changes to their diet and maintain them in the long term? A review of the evidence. *Appetite*, 54, 433-441. doi:10.1016/j.appet.2010.01.017
- Israa Assaf, F. B.-B. (2019). Students university healthy lifestyle practice: quantitative analysis. *Health Information Science and Systems*, 7. doi:10.1007/s13755-019-0068-2
- Jose A. R. Cembranos, C. A.-L.-O.-S.-V.-S. (2022). *La física y los medios audiovisuales*. Madrid, Spain: E-prints Complutense (<https://eprints.ucm.es/id/eprint/74533/>).
- Jose A. R. Cembranos, I. F.-M. (2022). Sustainability and innovative education. *International Conference on Sustainable Cities and Urban Landscapes, ICSULA 2022* (pp. 415-426). Konya: ISPEC Publishing House.
- Margaret J Morris 1, J. E. (2015). Why is obesity such a problem in the 21st century? The intersection of palatable food, cues and reward pathways, stress, and cognition. *Neurosci Biobehav Rev*, 58, 36-45. doi:10.1016/j.neubiorev.2014.12.002
- Vasanti S. Malik, W. C. (2013). Global obesity: trends, risk factors and policy implications. *Nature Reviews Endocrinology*, 9, 13-27. doi:10.1038/nrendo.2012.199
- Visioli, F. (2022). The ultra-processed foods hypothesis: a product processed well beyond the basic ingredients in the package. *Nutrition research reviews*. doi:10.1017/S0954422422000117

**GÜRCÜ KEÇİLERİNDE CRYPTOSPORİDİOSİS VE COCCİDİOSİS ETKENLERİNİN  
TESPİTİ VE YAYGINLIĞI**

**DETECTION AND PREVALENCE OF CRYPTOSPORIDIOSIS AND COCCIDIOSIS IN  
GURCU GOATS**

**Neslihan ÖLMEZ<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Dr. Öğr. Üyesi, Kafkas Üniversitesi, Kars Meslek Yüksekokulu, Veterinerlik Bölümü, Kars, Türkiye.

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2191-8924>

**Nilgün AYDIN<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>Dr. Öğr. Üyesi, Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD., Kars, Türkiye.

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0571-7882>

**Barış SARI<sup>3</sup>**

<sup>3</sup>Prof. Dr., Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD., Kars, Türkiye.

<sup>3</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9978-2513>

**Gencay Taşkın TAŞÇI<sup>4</sup>**

<sup>4</sup>Doç. Dr., Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD., Kars, Türkiye.

<sup>4</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8590-1101>

**ÖZET**

*Eimeria* türleri, omurgalı ve omurgasız konaklarda yaygın olarak görülmekte ve coccidiosis'e neden olmaktadır. *Cryptosporidium spp.* türleri ise zoonotik öneme sahip olup, çiftlik hayvanlarının özellikle neonatal dönemdeki hayvanların önemli bir hastalığı olarak bilinmektedir. Coccidiosis ve cryptosporidiosis, keçilerde sık rastlanılan enfeksiyonlar olup, özellikle genç hayvanlarda verim kaybı, kilo alımında azalma, süt ve kıl üretiminde düşüş ve şiddetli enfeksiyonlarda ölüm ile seyretmektedir. Hayvancılık işletmelerinde ekonomik zararlara neden olduklarından dolayı coccidiosis ve cryptosporidiosis etkenlerinin çiftlik hayvanlarında araştırılması önem arz etmektedir. Bu bağlamda, Kars ve Ardahan bölgesinde endemik bir ırk olan Gürcü keçisinde coccidiosis ve cryptosporidiosis etkenlerinin varlığı ve yaygınlığı araştırılmıştır. Çalışmada, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Prof. Dr. Ali Rıza Aksoy Eğitim, Araştırma ve Uygulama Çiftliği'nde yetiştirilen 37 Gürcü keçisinden alınan dışkı örneklerinde *Eimeria spp.* ve *Cryptosporidium spp.* etkenlerinin varlığı ve yaygınlığı analiz edildi. *Eimeria* oookistlerinin tespiti için, her bir dışkı örneğine, çinko sülfat çözeltisi ile flotasyon tekniği uygulandı ve ışık mikroskopunda incelendi. Pozitif bulunan örneklerin, McMaster tekniği ile gram dışkıda oookist sayısı (OPG) belirlendi ve aynı zamanda oookistlerin sporlandırılması yapılarak tür teşhisi yapıldı. 20 örneğin (%54,05) *Eimeria spp.* yönünden pozitif olduğu belirlendi. Sedimentasyon yöntemi ile hazırlanan dışkı yaymaları Carbol Fuksin boyama yöntemi ile incelendi ve hiçbir dışkı örneğinde *Cryptosporidium* oookistlerine rastlanılmadı.

**ABSTRACT**

*Eimeria* species are common in vertebrate and invertebrate hosts and cause coccidiosis. *Cryptosporidium spp.* species have zoonotic importance and are known as an important disease, especially during the neonatal period, of farm animals. Coccidiosis and cryptosporidiosis are common infections in goats, and particularly in young animals results in production loss, decrease in weight gain, decrease in milk and hair production, and death in severe infections. It is important to investigate the agents of coccidiosis and cryptosporidiosis in farm animals because of the economic loss they cause in livestock enterprises. In this context, the presence and prevalence of coccidiosis and cryptosporidiosis



agents in Gurcu goats, an endemic breed in Kars and Ardahan regions, were investigated. In the study, the presence and prevalence of the of *Eimeria spp.* and *Cryptosporidium spp.* causative agents were analyzed in fecal samples taken from 37 Gurcu goats raised at the Prof. Dr. Ali Rıza Aksoy Education, Research and Application Farm of the Faculty of Veterinary Medicine at Kafkas University. For the detection of *Eimeria* oocysts, zinc sulfate flotation technique was applied to each fecal sample and examined under a light microscope. The number of oocysts (OPG) in gram feces was determined by the McMaster technique of the positive samples, and at the same time, the species was identified by sporulating the oocysts. The 20 samples (54.05%) were found positive for *Eimeria* species. Fecal smears prepared by sedimentation method were examined by Carbol Fuchsin staining method and *Cryptosporidium* oocysts were not found in any fecal sample.

**Keywords:** *Cryptosporidium spp.*, *Eimeria spp.*, goat.

## GİRİŞ

Cryptosporidiosis ve coccidiosis hayvanlarda ishal, gelişme geriliği, kilo kaybı ve karın ağrısı gibi klinik belirtilerle seyretmektedir (Dinçer ve Vatansever, 2001; Fayer, 2010). Hastalığın şiddeti ve patogenezi, enfeksiyona neden olan parazitinin türüne ve konağın genel durumuna göre değişkenlik göstermektedir (Karaer ve Nalbantoğlu, 2001; Fayer, 2010).

Cryptosporidiosis, Apicomplexa sınıfına ait *Cryptosporidium*'lar tarafından oluşturulan, özellikle neonatal dönemde ciddi enfeksiyonlara neden olan zoonoz bir hastalıktır. *Cryptosporidium* türlerinin yaygınlığında, çiftlikteki hayvan sayısı, hayvanların yaşı, barınak tipi ve altlık tipi, su kaynağı, ahır veya çiftlikteki buzağı sayısı ve buzağılarda ayrı/birlikte yetiştirme gibi risk faktörleri rol oynamaktadır. *Cryptosporidium parvum* en yaygın görülen tür olup, hayvan ve insanlarda görülmektedir (Fayer, 2010).

Keçilerin bağırsak hastalığı olan coccidiosis, *Eimeria* cinsi, Eimeriinae alt familyası, Apicomplexa filumunun protozoan parazitinden kaynaklanmaktadır (Dinçer ve Vatansever, 2001; Foreyt, 1990). Yeryüzünde yaygın olarak görülmekte ve keçi yetiştiriciliğinde önemli bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Klinik ve subklinik enfeksiyonun neden olduğu kayıplar nedeniyle büyük ekonomik öneme sahiptir (Dinçer ve Vatansever, 2001; Lima, 2004). Şimdiye kadar keçilerde 17 *Eimeria spp.* türü tespit edilmiş olup, *Eimeria christenseni*, *E.arloingi*, *E.caprina* ve *E.ninakohlyakimovae* patojenik türler olarak kabul edilmektedir (Sayın ve ark., 1986; Dinçer ve Vatansever, 2001; Kheirandish ve ark., 2014).

Bu çalışmada, Kars bölgesinde endemik bir ırk olan ve halk elinde yetiştiriciliği yapılan Gürcü keçilerinde cryptosporidiosis ile coccidiosis yaygınlığının mikroskopik olarak tespit edilmesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

Çalışma materyali, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Prof. Dr. Ali Rıza Aksoy Eğitim, Araştırma ve Uygulama Çiftliği'nde yetiştirilen 37 Gürcü keçisinden alınan dışkı örneklerinden temin edildi. (Etik Kurul İzin Belgesi No: KAÜ-HADYEK/2023-007). Dışkı örnekleri hayvanların direkt rektumundan steril dışkı kaplarına alındı ve tamamı 1 yaştan büyük hayvanlardan oluşmaktaydı. Dışkı örneklerinin tamamı normal/yumuşak kıvam olarak nitelendirildi.

*Cryptosporidium spp.*'nin varlığını tespit etmek için her hayvana ait dışkı örnekleri, sedimentasyon yöntemi ile elde edilen sedimentten dışkı yaymaları hazırlanarak Carbol-Fuksin boyama yöntemi ile 40x büyütme ile mikroskop altında incelendi.

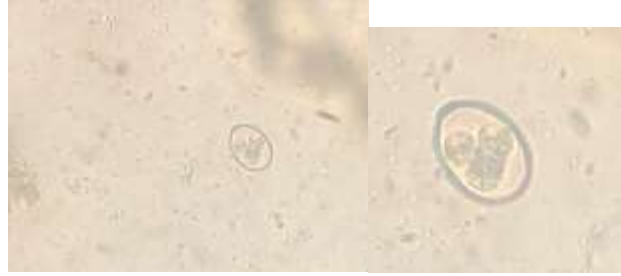
*Eimeria spp.* türlerinin tespiti için ilk olarak dışkı örnekleri santrifüj flotasyon yöntemi ile incelendi. Bunun için bir miktar dışkı içerisine çinko sülfat çözeltisi eklenerek dışkı homojenize hale getirildi ve 5 dakika 3000g hızda santrifüj yapıldı. Örneklerin üst kısmından öze ile bir miktar alınarak 10x büyütme ile mikroskop altında incelendi. Ookist saptanan örneklerin gram dışkıda ookist sayımı (OPG) modifiye McMaster yöntemi ile yapıldı. Enfekte hayvanlarda bulunan *Eimeria* türlerinin tür ayırımı yapabilmek için, ookistlerin sporlandırılması amacıyla her örnek çeşme suyu ile homojenize edildi ve petri kutularına konuldu. Her örnek içerisine %2,5'lük  $K_2Cr_2O_7$  (Potasyum dikromat) ilave edilerek 27°C'de sporlanmaya bırakıldı (Eckert ve ark., 1995). Sporlanan ookistlerin tür tayinleri ilgili kaynaklardan yararlanılarak (Soulsby, 1982, Dinçer ve Vatansever 2001, Verma ve ark., 2021) morfolojik

özelliklerine (oocystlerin şekli, rengi, büyüklüğü, cidar kalınlığı, sporokist ve sporozoitlerin şekli ve büyüklüğü, Stieda cisimciği, kutup granülü, mikropil ve kep gibi yapıların varlığı gibi) göre 40x büyütme ile ışık mikroskobu altında yapıldı.

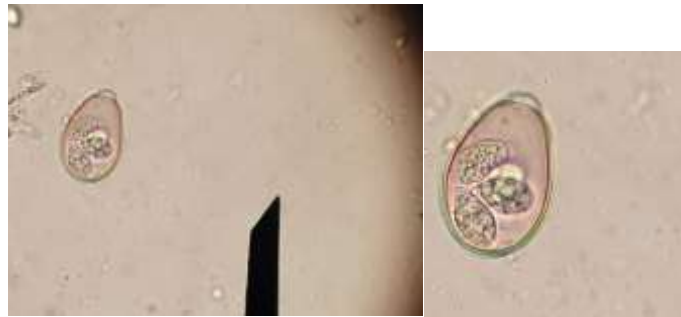
### BULGULAR

Cryptosporidiosis yönünden incelenen 37 dışkı örneğinin hiçbirinde *Cryptosporidium spp.* oocistlerine rastlanılmadı.

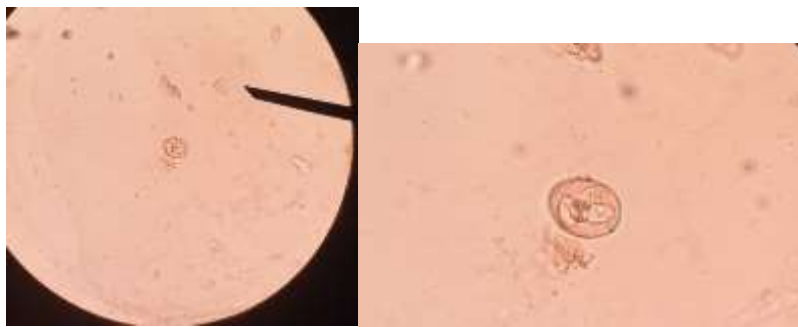
Coccidiosis yönünden incelenen 37 dışkı örneğinin 20'sinde (%54,05) *Eimeria spp.* pozitif olduğu belirlendi. Gram dışkıda görülen oocist sayısı 2-3148 olarak bulundu. Hiçbir hayvanda klinik belirti gözlenmedi. Sporlandırılan örneklerden yapılan tür teşhislerinde *E. ninakohylakimovae* (%35,1), *E. apsheronica* (%27,02), *E. arloingi* (%16,2) ve *E. christenseni* (%8,1) türleri tespit edildi. Pozitif örneklerin %55'inde (20/11) miks enfeksiyon görüldü. Tek tür ile enfekte 9 örnek (%45), iki tür ile enfekte 10 örnek (%50) ve 3 tür ile enfekte 1 örnek (%5) bulundu. Muayene edilen örneklerin 17 tanesinde (%45,9) oociste rastlanılmadı. Tespit edilen türler arasında *Eimeria* türleri içinde en yaygın olarak patojenitesi yüksek olarak bilinen *E. ninakohylakimovae* 13 dışkı örneğinde (%35,1) *E. christenseni* ise 3 dışkı (%8,1) örneğinde saptandı ve *E. christenseni* bulunan dışkı örnekleri miks enfeksiyonda gözlemlendi.



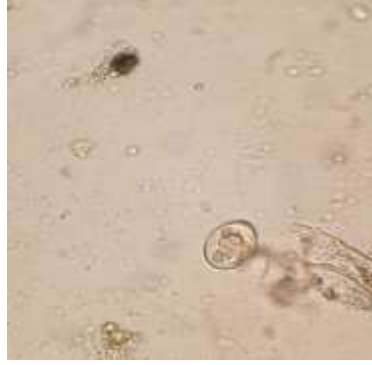
*E. arloingi*



*E. cristenseni*



*E. ninakohlyakimovae*



*E. apsheronica*

## SONUÇ

Keçilerde cryptosporidiosis Türkiye’de ilk kez 1989’da bildirilmiş (Özkul ve ark. 1989) olup, salgın olarak ilk kez 2005 yılında ölümle rapor edilmiştir (Sevinç ve ark. 2005). *Cryptosporidium spp.* prevalansı İzmir ilinde ishallerde %23,3 olarak ishal olmayan keçilerde ise %2 olarak, Aydın’da yapılan araştırmada %18,6 olarak tespit edilmiştir (Erman ve ark., 2000; Paşa ve Ulutaş, 2003).

Cryptosporiosis yaygınlığı Kars ilinde daha önce buzağılarda mikroskopik olarak %3,8 ila %25,7 arasında (Gündüz ve Arslan, 2017; Arslan ve ark., 2001), ishallerde %38,8 olarak (Sarı ve ark., 2009), periparturient dönemdeki ineklerde %7,2 olarak (Arslan ve ark., 2012) bulunduğu ve bölgede *Cryptosporidium spp.*’nin varlığı bildirilmiştir. Keçilerde cryptosporidiosis varlığı bölgede daha önce araştırılmamış olup, oocistlere rastlanılmaması, hayvanlarda ishal gibi klinik belirtilerin görülmemesi ile açıklanabilmektedir.

Keçilerde *Eimeria* enfeksiyonları ile ilgili yapılan çalışmalarda Dünya’da 17 farklı türün Türkiye’de ise 10 farklı türün belirlendiği bildirilmiştir (Sayın ve ark., 1986; Dinçer ve Vatansver, 2001; Gül, 2007; Kheirandish ve ark., 2014). Kars ilinde keçilerde ilk defa gerçekleştirilen bu çalışmada 4 farklı *Eimeria* türü tespit edildi, *Cryptosporidium spp.* etkenine rastlanılmadı. Türkiye’de keçilerde coccidiosis mikroskopik prevalansını ortaya koyan birçok çalışma yapılmış olup %100 (Ankara) ile %23,5 (Osmaniye) arasında bulunmuştur (Güralp ve Oğuz, 1967; Özdemir ve Çaya, 2012). Ege bölgesinde %53,3 olarak, Elazığ ilinde %94,6 ve Van ilinde %69,8 olarak, Afyonkarahisar ilinde %39,6 olarak tespit edilmiştir (Sayın ve ark., 1986; Güler ve ark., 1990; Göz ve ark., 2006; Çiçek ve ark., 2016). Çalışmamızda Gürcü keçilerinde *Eimeria* enfeksiyonlarının prevalansı %54,05 olarak bulunmuştur. Türkiye’de yapılan çalışmalarda keçilerde görülen türler içinde Van ilinde; *E. arloingi* (%40,9), *E. christenseni* (%34,3) ve *E. alijeve* (% 32,6) türlerinin (Değer ve ark., 2003), Afyon ilinde; *Eimeria caprina* (%43,2) ve *E.ninakohlyakimovae* (%33,8) türlerinin (Çiçek ve ark., 2016) Iğdır ilinde ise *E. arloingi* (%47,43), *E. christenseni* (%45,14), ve *E. ninakohlyakimovae* (%36) türlerinin (Gül, 2007) en yaygın türler olarak görüldüğü bildirilmiştir. Gürcü keçilerinde yapılan çalışmamızda *E. ninakohlyakimovae* (%35,1) ve *E. apsheronica* (%27,02) en yaygın görülen türler olarak saptandı.

Kars ilinde *Eimeria* prevalansı koyunlarda %93,9 olarak (Arslan ve ark., 1999), periparturient dönemdeki ineklerde %65,6 olarak (Arslan ve ark., 2012), buzağılarda %90,8 (Arslan, 1997) olarak bulunduğu ve bölgede coccidiosis etkenlerinin çiftlik hayvanlarında varlığı bildirilmiştir. Bu çalışma ile Kars ilinde keçilerde ilk defa *Eimeria spp.* enfeksiyonlarının prevalansı belirlenmiştir. Bu çalışma ile elde edilen sonuçlar, keçilerde yapılan önceki çalışmaların verileri ile benzerlik göstermekte olup, iklim, çevre koşulları, hayvanların genel sağlık durumu gibi faktörlerle prevalans değerleri değişiklik gösterebilmektedir.

Hayvancılık ekonomisinde büyük kayıplara sebebiyet veren coccidiosis, Kars ili Gürcü keçilerinde yapılan mikroskopik muayene ile yüksek düzeyde bulunmakla birlikte patojenitesi yüksek olan türler tespit edilmiştir. Çalışmanın yapıldığı bölge keçi coccidiosis bakımında risk altında olup özellikle neonatal oğlakları tehdit etmektedir. Bu nedenle subklinik enfeksiyonların gözden kaçabilme ihtimallerine karşın korunma ve kontrol programlarının uygulanması kanaatine varılmıştır.

## KAYNAKLAR

- Arslan, M.Ö. (1997). Kars yöresi buzağlarında *Eimeria* türlerinin yaygınlığı. *Kaü Vet. Fak. Derg.*, 3(2), 141-149.
- Arslan, M.Ö., Gıcık, Y., Erdoğan, H.M., Sarı, B. (2001). Prevalence of *Cryptosporidium spp.* oocysts in diarrhoeic calves in Kars Province, Turkey. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 25(2), 161-164.
- Arslan, M.Ö., Sarı, B., Kara, M., Taşçı, G.T., İtik Ekinci, A., Gündüz, N. (2012). Research on the prevalence of *Eimeria* and *Cryptosporidium* species in cows in periparturient period in Kars region. *Kaü Vet. Fak. Derg.*, 18(Supplement A).
- Arslan, M.Ö., Umur, S., Kara, M. (1999). The prevalence of coccidian species in sheep in Kars province of Turkey. *Tropical animal health and production*, 31, 161-165.
- Çiçek, H., Sevimli, F., Eser, M., Acar, A. (2016). Prevalence of Coccidial Infection of Saanen Goats in Afyonkarahisar Province. *Kocatepe Vet. J.*, 9(4), 327-331.
- Değer, S., Gül, A., Ayaz, E., Biçek, K. (2003). The prevalence of *Eimeria* species in goats in Van. *Turk. J Vet & Anim Sci.*, 27(2), 439-442.
- Dinçer, Ş., Vatansever, Z. (2001). Koyun ve Keçilerde Coccidiosis (2001), In: Coccidiosis, Ed; Dinçer Ş. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No: 17, 2001; 219-233.
- Eckert, J., Braun, R., Shirley, M. (1995). Coudert P, Guidelines on techniques incoccidiosis research, EUR 16602 en.
- Erman N. Beyazıt A, Oz I. (2000). Prevalence of cryptosporidiosis in lambs and goat kids in Izmir province. *Bornova Vet Kont Araşt Enst Derg.* 2000; 25:33-38.
- Fayer R., (2010). Taxonomy and species delimitation in *Cryptosporidium*. *Exp Parasitol*, 124(1):90-7.
- Foreyt, W.J. (1990). Coccidiosis and cryptosporidiosis in sheep and goats. *Vet. Cli. North America: Food Animal Practice*, 6(3), 655-670.
- Göz Y, Aydın A, Yüksek N, Değer S, (2006). Van Yöresi Keçilerinde Coccidia Türlerinin Yaygınlığı. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.* 12(2): 163-165.
- Gül A., (2007). The prevalence of *Eimeria* species in goats in Iğdır. *Turk J Vet Anim Sci.* 31(6):411414.
- Güler, S., Dumanlı, N., Özer E., Erdoğan, Z., Köroğlu, E. (1990). Elazığ yöresinde kuzu ve oğlaklarda bulunan *Eimeria* türleri ve bunların yayılışı üzerine araştırmalar. *Doğa-Tr J Vet Animal Sci*, 14: 295-300.
- Gündüz, N., Arslan, M.Ö. (2017). Determining the prevalence of *Cryptosporidium* infections with acid fast staining and ELISA in calves at the kars province of Turkey. *Türk. Parazitol. Derg.*, 41(1), 5.
- Güralp, N., Oğuz, T. (1967). Yurdumuz Tiftik Keçilerinde Görülen Parazit Türleri ve Bunların Yayılış Oranı. *AÜ Vet. Fak. Derg.* 14(1): 55-64.
- Karaer, Z., ve Nalbantoğlu S. (2001). Coccidiosis'in Epidemiyolojisi. Dinçer Ş. Edt. Coccidiosis. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No:17. İzmir.
- Kheirandish, R., Nourollahi-Fard, S.R., Yadegari, Z. (2014). Prevalence and pathology of coccidiosis in goats in southeastern Iran. *J Parasit Dis.* 2014; 38 (1): 27-31.
- Lima, J.D. (2004). Coccidiose dos ruminantes domesticos. *Rev Bras Parasitol Vet.* 13 (S1): 9-13.
- Özdemir, R., Çaya, H. (2012). Adana, Mersin ve Osmaniye illerinden gelen oğlaklarda Coccidiosisin prevalansının araştırılması. *AVKAE Derg.* 2(2), 6-9.
- Özkul, I.A., Alçıgır, G., Karaer, Z. (1989). Oğlaklarda cryptosporidiosis. VI. National Parasitology Congress. 1989; 26-29 September, İstanbul. 13.

- Paşa, S., Ulutaş, B. (2003). Prevalence of *Cryptosporidium* oocysts in goats in Aydın province. *Türk Parazitol Derg*, 27(4), 240-242.
- Sari, B., Arslan, M.Ö., Gıcık, Y., Kara, M., Taşçi, G.T. (2009). The prevalence of *Cryptosporidium* species in diarrhoeic lambs in Kars province and potential risk factors. *Trop anim health product*, 41, 819-826.
- Sayın, F., Kahyaoğlu, T., Çakmak, A. (1986). Ege bölgesinde (İzmir, Manisa, Aydın) koyun ve keçilerde *Eimeria* türlerinin tesbiti. *Ankara Univ Vet Fak Derg*. 33 (1): 90-9.
- Sevinç, F., Şimşek, A., Uslu, U. (2005). Massive *Cryptosporidium parvum* infection Associated with an Outbreak of Diarrhoea in Neonatal Goat Kids. *Turk J Vet Anim Sci.*; 1317-1320.
- Soulsby, E.J.L. (1982). *Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals*. 7th ed. Baillière Tindall, London.
- Verma, R., Sharma, D.K., Gururaj, K., Paul, S. (2021). Dynamics of Sporulation of Caprine Eimerian Species under Variable Temperature and Humidity in Semi-arid Region of India. *Journal of Livestock Research*, 11(1), 133-137.

## DEVELOPMENT OF AN INTELLIGENT IRRIGATION CONTROL AND REAL-TIME MONITORING HUB

*Felix Michael Oguche<sup>1,2</sup>, Zsolt Zoltán Fehér<sup>1,3</sup>*

<sup>1</sup>*University of Debrecen, Institute of Water and Environmental Management, Debrecen, Hungary*

<sup>2</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5075-3559>*

<sup>3</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0007-6659-4197>*

### ABSTRACT

The shortage of freshwater resources around the globe gives rise to the need for optimum usage. More water wastage can be reduced by watering based on crops' needs rather than just irrigating based on the volumetric water content of the soil. Optimizing agricultural sensor hubs has become increasingly important due to the growing demand for real-time data in precision agriculture. By developing an optimized sensor hub, we can collect accurate and timely data on soil moisture, ambient and soil temperature, and soil matrix differential pressure ambient light and use this information to make informed irrigation decisions. Implementing real-time variable rate irrigation decision-making models can help farmers reduce water consumption while improving crop yield and quality. By utilizing the data collected by the sensor hub, these models can accurately determine the optimal irrigation rate for each crop type, resulting in significant water savings and increased profitability. The sensor hub is designed for low-power consumption, high data transfer rates, and compatibility with various environments, including crop and soil types and weather patterns. The implemented machine learning algorithm analyzes and interprets sensor data, providing farmers real-time information on crop water needs and soil moisture levels. An Agrotronic tool was developed and calibrated using the measurement taken with soil moisture and air humidity, directly calculating the water balance. The optimized agricultural sensor hub effectively implements real-time variable rate irrigation decision-making models. Real-time observation of the environment allows for informed irrigation decisions that benefit the farmer and the environment. The research findings of this project will shed light on the application of technology and data-driven decision-making processes in precision agriculture, enabling farmers to make informed irrigation decisions that optimize water usage and increase crop yields.

The research was funded by HORIZON 2020 Grant Agreement No 858735: Innovative Sustainable Water Retention and Management Measures: "*WATERAGRI*".

**Keywords:** precision agriculture, monitoring, data assimilation, irrigation control

### 1. Introduction

The Scarcity of water and shortage required precise usage. The increase in the population raises the need for optimized production in agriculture. (Hop et al., 2022). The new technological era brought on the Internet of Things (IoT), sensors, and actuators that provide several solutions (Shinha, B., and Dhana, R., 2022). For an improved yield of crops, active monitoring of the irrigation system is needed, especially in areas where water is scarce. Energy efficiency is vital in agriculture to resolve the energy requirement needs of farming operations. In response to changing climate conditions, new and improved agricultural technologies can contribute to higher crop yields. Following improved advancement, instruments for automatically measuring soil properties are now available, resulting in higher crop yield quality and quantity. An intelligent irrigation system with a solar energy system provides energy from renewable energy sources (Al, Alia, et al., 2019). Many businesses and individuals have designed and developed intelligent irrigation systems that use smart innovation to reduce manual labor and irrigation time. These devices primarily measure volumetric soil moisture content with little or no regard for critical parameters. These critical parameters include the soil's field capacity, the allowable management deficit, available water at the root zone, crop requirements, and biophysical properties. These factors

can help reduce water demand and waste (Peters et al., 2003). According to root zones, considering soil moisture estimation uncertainty, an optimized interactive irrigation support system should cover the crop need and available water at different depth levels. Biophysical properties of the soil, thereby reducing further water usage, reducing excess money spent on the water, and avoiding losing water and nutrient to deep percolation by extra irrigation (Shock et al., 2012). Making it every farmer's desire to have it and changing their mindset to start investing more in the innovative system on their farm. Porosity governs soil functions such as water and air fluxes. This function is critical in the gas circle between the soil and the atmosphere, as well as in the flow and retention of water in the soil. These are vital processes for keeping aeration and water-holding capacity at an optimal level for soil organisms and crop roots (Renato et al., 2022). Plant with deeper roots has access to a much bigger area of soil as a result of a larger moisture body, in comparison to plants with shallow root (e.g., onions, peas, strawberries). Irrigating soil with more water than it can hold results in deeper percolation. Essential plant nutrients and other soluble compounds are lost along with water below the plant's root zone (Peters et al., 2013). Saturated soil gradually depletes from field capacity to a permanent wilting point. Meanwhile, crop production is not affected until it gets to the point where production drops. The point is known as the water stress depending on the Plant. Soil moisture loss below the stress point results in a significant loss in productivity (Rtroy et al., 2013) A soil moisture instrument is used to determine the moisture content of the soil. It can be either a mobile or handheld instrument, or it is fixed in place. The portable sensor can be used to measure the soil moisture in several areas, or it can be buried in the soil to get a deeper root level reading and the soil profile. Stationary fixed sensors are placed at prearranged locations and depths. These secured locations should have properties representing the entire field and the lowest moisture-holding capacity. (Nagy et al. 2021)

The aims were to develop intelligent, low-cost soil moisture sensors capable of tracking water demand and other agriculture-related observations – like root pressure or hydrometeorological factors. The results can be used in a dynamic data-assimilation framework, providing real-time modeling capabilities for spatially variable fertigation and other applications in precision agriculture. To compare and validate the efficiency of the introduced soil moisture sensor. The application of the more expensive commercial sensors does not provide significant information about soil moisture conditions. At the same time, the cheaper price tag may motivate farmers to invest in the improvement of traditional cultivation methods, allowing them to better adapt to changing climatic conditions.

## 2. Material and method

The design and development are combinations of hardware and software. The instrument was calibrated, and moisture readings were taken from three different types of soil samples. The measurement method emphasizes the system to solve the problem of determining the maximum amount of water that can be irrigated based on crop need before losing water to deep percolation before water stress begins to cause a reduction in crop productivity in real-time. The instrument comprises several parts, as shown in fig. 1. as a connection flow plan. The complete system diagram consists of Arduino Mega 2560 R3 microcontroller, which controls the entire process, as shown in fig. 2. The sensing units are two (2) DS18B20 soil temperature sensors 1 and 2, DHT 22 digital humidity and temperature sensors, MPX5100DP soil matrix differential pressure sensor, and two (2) improved capacitive soil moisture sensors 1 and 2, and TEMT6000 ambient light sensor. A 6W solar panel supplies the power and two (2) 3.7-V rechargeable batteries, as shown in figure 2. diagram. The pump carries out the watering, and the output unit comprises node MCU (ESP8266 Wi-Fi chip). ESP8266 12F is an open-source firmware for transmitting data via the internet of things to a web-based platform <http://agrotronicsystems.com/>.

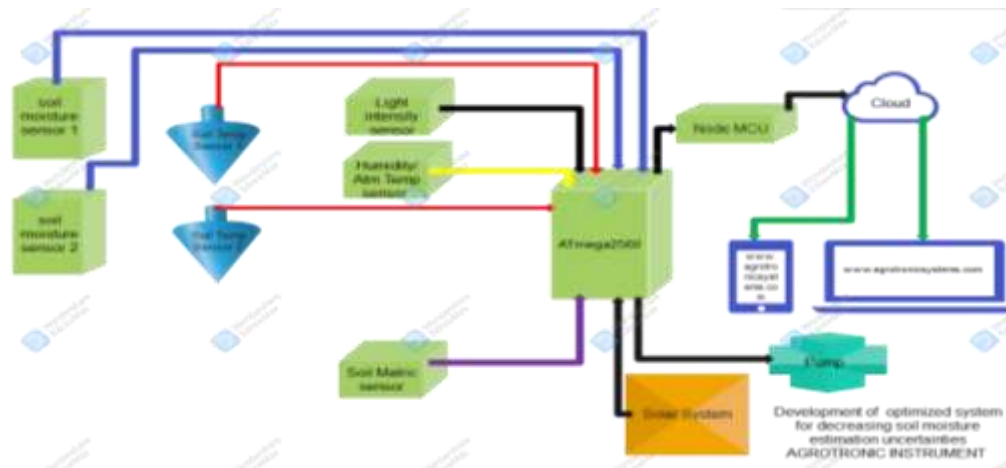


Fig. 1. Detailed scheme of sensor connections to AT mega2560 (micro-processor)

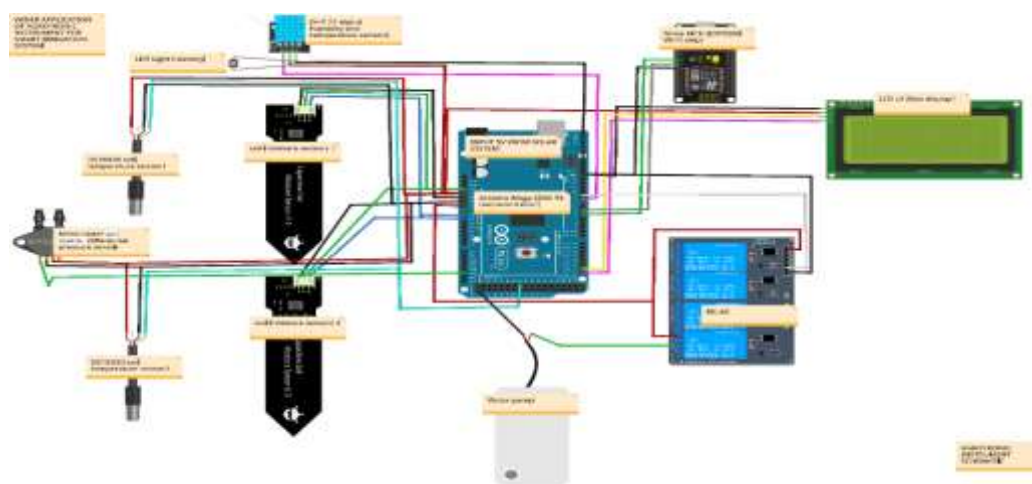


Fig. 2. More comprehensive application of Agrotronic instrument for an intelligent decision system for irrigation.

## 2.1 System operation.

The flowchart in Figure 3 illustrates the system's operation. Once the system is powered on, it initializes within 2 minutes, and then the display unit indicates the soil moisture 1 and 2, temperature 1 and 2, and SMP of the soil. Suppose the Available moisture content is lower than the threshold. In that case, the threshold depends on whether the sandy or loamy switch is on or off, which will increase or decrease the available water holding capacity (AWHC) of sandy and loamy soil by 1.4 to 2.1 inches per foot, respectively, and the temperature of the soil is less than 24-degree centigrade and soil moisture potential is more significant than 33Kpa, the water pump is turned on. This situation indicates that the plants need moisture. If the moisture content is greater or equal to the threshold the pump is off, the information and data are sent to <http://agrotronicsystems.com/>.





Fig. 3. Flowchart for the working system of Agrotronic instrument.

## 2.2 Laboratory Experiments.

Preliminary laboratory studies were conducted at the soil physics laboratory of the Institute of Water and Environmental Management, Faculty of Agricultural, Food Science, and Environmental Management, University of Debrecen, Hungary, in February 2022. Following that, another test was performed to compare the results. It was carried out starting with collecting soil samples from a representative area. Thereafter we removed any plant material, rocks, or foreign objects from the samples. We dried the soil samples in a 105°C oven. The dried soil was placed in plastic flasks labeled samples 1, 2, and 3 that were large enough to allow the sensing area of my soil moisture sensor to be immersed without touching the sides of the container. In each container, a range of soil moisture was measured by adding 10 ml of water until the soil became saturated. In conjunction with a precise instrument of the institute (KERN DAB Electronic moisture analyzer). On an analytical balance, the dry and wet weights of the Sandy soil samples in the container were recorded. Calibration of the Agrotronic instrument was performed on three distinct soil samples, during which the sensors' repeatability and reproducibility were evaluated.. For each soil sample, the measurements were repeated ten times with both sensors.

## 2.3 Novel calibration to determine crop moisture need.

The electronics components were isolated and protected via a WTT tube 125°C (ø 13) and heat glue encapsulation. The novel soil-specific calibration was carried out using field capacity, biophysical properties, and temperature (alfafaAWCdept1= AWCdept1\*0.5, CornAWCdept1= AWCdept1\*0.4, potatoeAWCdept1= AWCdept1\*0.3) to determine different crop need. The procedure measures the VWC of soil samples at different depths using the reference method.

## 3. Results

An Agrotronic instrument for intelligent soil moisture measuring was successfully developed and calibrated. Figure. 4 and 5 shows the new device with its components.



Fig. 4. Agrotronic instrument for intelligent systems



Figure 5: The welcome page of the interactive support system (<http://agrotronicsystems.com/>)

Tables 1 show the summaries different measurements obtained from the experimental sensors, KERN DAB Electronic (% moisture by volume) and Agrotronic moisture (% moisture vol by my instrument) in the laboratory, and the readings were analyzed and compared with the help of Stat graphics centurion software using the simple regression of Kern Dab electronic vs Agrotronic moisture reading 1, 2, and 3 comparisons of regression lines of Kern Dab electronic versus Agrotronic moisture reading 1,2 and 3 by volume of water added and finally by calibration models of kern dab electronic versus Agrotronic moisture reading 1,2 and 3.

**Table 1:** shows summary statistical data from the analysis.

Soil Sample	Reading	Correlation Coefficient	Standard Error	P-Value	R-Squared	MAE	Lack-of-Fit
Sample1	1 <sup>st</sup>	0.7673	0.1720	0.0058	58.88	0.098	0.309
	2 <sup>nd</sup>	0.8366	0.1469	0.0013	69.99	0.089	0.515
	3 <sup>rd</sup>	0.8501	0.1412	0.0009	72.27	0.094	0.353
Sample 2	1 <sup>st</sup>	0.8842	0.1252	0.0003	78.19	0.085	0.260
	2 <sup>nd</sup>	0.8884	0.1232	0.0003	78.92	0.082	0.619
	3 <sup>rd</sup>	0.9417	0.0903	0.0000	88.68	0.062	0.000
Sample 3	1 <sup>st</sup>	0.9878	0.0397	0.0000	97.55	0.028	0.000
	2 <sup>nd</sup>	0.9960	0.0230	0.0000	99.18	0.015	0.1334
	3 <sup>rd</sup>	0.9970	0.0197	0.0000	99.40	0.016	0.1763

## 4. Discussion

### 4.1 Sensor substitutability study

All volumetric water content levels and several calibration points of the soil recorded and reading 1, 2, and 3 were taken to have a more complex behavior of the Agrotronic instrument in the soil during the tests. In general, the fixed pattern in the Agrotronic moisture instrument is more pronounced. A comparison between measurements of the sensor at the same volumetric water content level was performed based on samples 1, 2, and 3 depending on the depth of the insertion and the moisture level. In terms of sensor-to-sensor substitutability, as shown in figure 6, the comparison yields a similar response from both sensors.

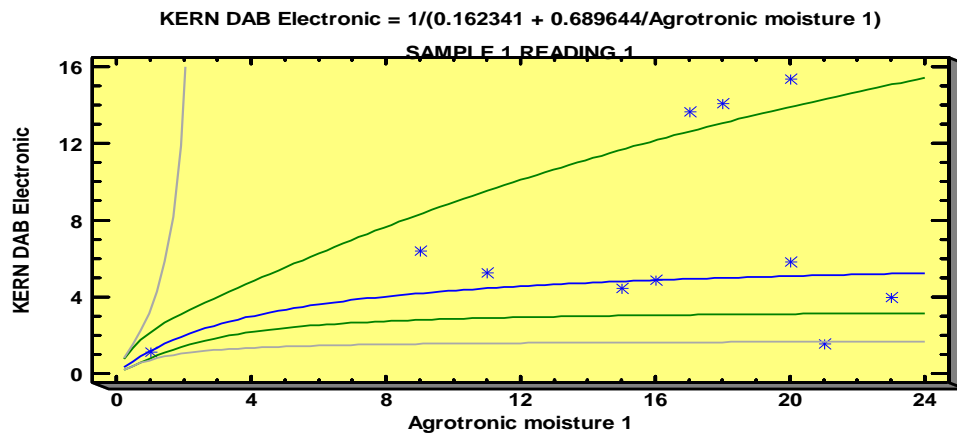


Figure 6. Graph of simple regression-Kern Dab electronic commercial moisture sensor versus Agrotronic moisture sensor, from sample 1, reading 1.

The Simple Regression of KERN DAB Electronic commercial sensor vs Agrotronic moisture sensor reading 1, 2, and 3 at an interval on soil samples 1, the test results confirm no significant differences between the two sensors. The P-value derived from the ANOVA table shows less than 0.05 for reading 1, 2, and 3 in soil sample 1 and also shows a statistically substantial union between KERN DAB Electronic and Agrotronic moisture at the 95.0% level of confidence. The determination coefficient (R-Square) indicates that the model as fitted explains between 58.9% and 72.27% of the KERN DAB Electronic moisture sensor variability. The correlation coefficient ranges from 0.77 to 0.85, indicating a strong link between the variables. The standard estimation error indicates that the residual deviation ranges from 0.14 to 0.17. This value can be used to construct prediction limits for new observations. Finally, the mean absolute error of 0.097 indicates that the soil moisture measurements are less than 1% off, which is practically insignificant in agriculture.

### 4.2 Comparison of Regression Lines.

The experimental characterization also contributed to a better understanding of how the novel sensor (Agrotronic moisture instrument) functions in comparison to a commercialized, well-controlled soil sensor.

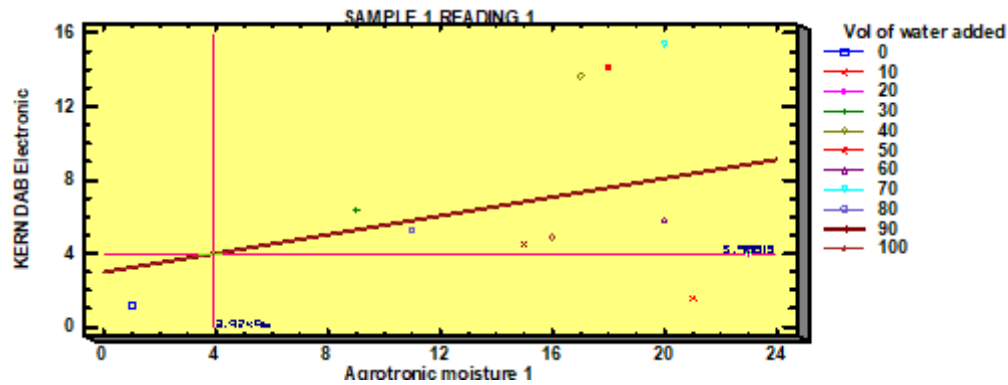


Figure 7. Graph of Comparison model for Kern Dab electronic commercial moisture sensor versus Agrotronic moisture sensor from sample 1, reading 1.

The study demonstrated a correlation between the dependent variable: KERN DAB Electronic (% moisture by volume), Independent variable: Agrotronic moisture (reading 1 % moisture vol by my instrument). Double reciprocal mathematical model of  $Y = 1/(a + b/X)$ . KERN DAB Electronic versus Agrotronic moisture by Vol of water added the dependent variable as shown in Figures 7. Agrotronic moisture with level codes of the volume of water added. Several complete cases, 11 Number of regression lines, 11. 90% of the outputs show the results of matching a linear regression mathematical model to describe the connection between KERN DAB Electronic, Agrotronic moisture, and volume of water added. The P-value derived from the ANOVA table shows less than 0.05, therefore exists a statistically meaningful correlation between both variable quantities at the 95.0% certainty level.

In addition, the new innovative instrument is convenient because it is inexpensive and can serve as a substitute for the costly ones in terms of durability and efficiency. The commercially available instruments are expensive and most often complicated for the farmer to use. Current improvements in electronics have led to the development of affordable sensors that can be coupled into fully operational systems. This research study exhibits an extraordinary possibility for applications of digital technologies in cultivation/agriculture. It helps in decision-making, as shown in figures 5. where users will access web-based services of data collected on the webpage from sensors and interactive support system <http://agrotronicsystems.com/>. The strong relationship between water matric potential and plant-available water is advantageous for irrigation and hydrology control and management. Electronic devices and the Internet of Things was used to implement the automated acquisition of data for irrigation control and management. A low-cost Agrotronic system was designed based on an open-source microcontroller platform and other parts. It accomplishes precise measurements of soil matric potential at regular periods. It uses a software platform to keep data in a hard drive for future use for control and management, therefore optimizing the use of water on the farm for improved agricultural production. The intelligent instrument knows how much water in the soil depth is accessible by the plants. The rooting depth is different for various crops and their age.

## 5. Conclusions

The new, intelligent, low-cost soil moisture instrument was designed and developed; it can be run with digital outputs. They are three major components of the Instrument are (capacitive moisture sensor, Soil matric potential sensor, and microcontroller). The optimized, low-cost intelligent system determines the maximum volume of moisture that can be irrigated before losing water to deeper percolation. It has been demonstrated that capacitive sensors can accurately measure soil moisture at a low cost and with sufficient precision. The calibration process validated the influence of the instrument based on plant needs. Consequently, the possibility of using the calibration curve without removing the instrument from the soil and transmitting data via the internet of things to a web-based platform <http://agrotronicsystems.com/> offers flexibility and comfort. Not many commercial sensors offer this capability, and even if they do, the price will be significantly higher. Agrotronic instrument accuracy might be a little lower than a few commercial sensors. Nevertheless, the low cost is significant and acceptable. Localizing irrigation at a certain depth, temperature correction, available water holding

capacity of the soil, and soil water pressure provide more helpful information than the volumetric water content readings used by commercial sensors.

## 6. References

Alalia, A., A. Nabulsia., H.S. Mukhopad., A.M Shihab., S. Fernandesd, & K. Ailabouni. 2019. IoT-solar energy powered smart farm irrigation system.

Hop, Q. T., Fehér, Zs. Z., Túri N., & Rakonczai, J. (2022): Climate Change as an Environmental Threat on the Central Plains of the Carpathian Basin Based on Regional Water Balances. *Geographica Pannonica*, 26(4), pp. 194–199.

Nagy, A., Szabó, A., Farkasné Gálya, B., & Tamás, J. (2021): Real-time spectral information to measure crop water stress for variable rate irrigation scheduling. In: Stafford, J.V. (szerk.) *Precision agriculture '21*. Wageningen Academic Publishers. 427–433. eISBN: 978-90-8686-916-9, ISBN: 978-90-8686-363-1 doi: 10.3920/978-90-8686-916-9

Peters, R., K. Desta., L. Nelson., & Wsu 2013. Prosser Irrigated Agriculture Research & Extension Center.

Rakonczai, J., Ladányi Zs., Blanka, V., Fehér Zs., & Kovács, F. (2021): A globális környezeti változások fontosabb magyarországi hatásai. In: *Elfogyasztott jövőnk?* Corvinus University, Budapest, pp. 271–303. Shock, C. – E. – Jaderholm, S. (2012): A Comparison of six soil moisture Sensors. *Agricultural Experiment Station – Special Report*, 1038, pp. 262–267

Shock, C., E. Feibert., & S. Jaderholm. 2012. A Comparison of six soil moisture Sensors. Available online at: <http://www.cropinfo.net/AnnualReports/2001/Popsensortest01.htm>

Sinha, B., & Dhanalakshmi, R. (2021): Recent advancements and challenges of Internet of Things in smart agriculture: A survey, *Future Generation Computer Systems*, 126(4) DOI:10.1016/j.future.2021.08.006

**FACTORS AFFECTING AGRITOURISM PARTICIPATION BY FARMER HOUSEHOLDS  
IN CAN THO CITY, VIETNAM**

*Thi-Hoang-Anh TRAN*

*Can-Tho University, School of Social Sciences and Humanities*

*Department of History - Geography - Tourism, Can-Tho City, Vietnam*

*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8264-8585>*

**ABSTRACT**

Agricultural tourism contributes positively to rural development in many countries around the world, especially in developing nations. With a tradition of agricultural production and tourism development as a key economic sector, Vietnam strives to build a new countryside from 2021 to 2025 based on AT. Located in the center of the Mekong Delta region, Vietnam's leading agricultural production area, Can Tho City is promoting the economic model of urban and high-tech agriculture in combination with tourism development. Studying the factors affecting agri-tourism participation by farmer households plays an important role in the growth of the economic model. By selecting 248 typical farmer households who are engaged in agro-tourism activities in 05 urban districts and 04 rural districts of CTC, the present study aims to (1) explore the factors influencing farmers' decision to participate in local agri-tourism activities; (2) analyze and evaluate the order of importance of these factors; (3) propose management implications to encourage the farmers' participation in local agricultural tourism activities. Approaches of this study included document research, field observations, in-depth interviews, and survey questionnaires. Research data obtained were analyzed by (1) Descriptive statistics with SPSS 20.0; (2) Evaluation of the measurement model by Partial Least Squares (PLS Algorithms) with SMARTPLS 3.0 software; (3) Structural Equation Modeling (SEM) test. The study findings revealed six factors in descending order of importance that affect farmers' decision to participate in local agri-tourism activities: (1) Local authorities' support (including policies, management); (2) Physical capital (including agricultural ecological environment (e.g. land area, production model), internet accessibility, income); (3) Perceived usefulness (including the values of AT for rural development); (4) Market (including market demand, market accessibility, favorable local resources (e.g. infrastructure, utilities)); (5) Social capital (including participation in farmer and tourism associations/clubs and contact with agricultural and tourism officers); (6) Human capital (including age, education level of the farmer household head). Based on the actual findings of the study, the management implications related to the stakeholders were finally proposed with the desire to stimulate the active participation of farmer households in local agri-tourism activities to promote this economic model developed in the study area.

**Keywords:** agriculture tourism, farmer household, rural development, Can Tho City, Mekong Delta region, Vietnam

**INTRODUCTION**

Tourism is an important contributor to many countries because the industry is linked to almost every sector within the country (Baloch & Rehman (2015), cited by Ngo and Nguyen (2020)). By combining agricultural activities and bringing many benefits to the development of agriculture, farmers, and rural areas, agritourism (agricultural tourism or agro tourism) (AT) is a type of tourism that attracts the interest of all stakeholders in both the tourism and agriculture sectors. Based on exploiting the specific features of agricultural production to create tourism products, AT products contribute to promoting beauty in labor; natural and cultural values; landscapes; and processing and consumption of local agricultural products. AT development in rural areas brings about sustainable economic, cultural, social, and environmental values. "AT contributes to expanding the market for agricultural products, creating livelihoods, improving the local people's incomes, promoting local socio-economic development, and changing the face of rural areas in a positive direction." (Dao, 2020). AT is a viable option for farmers

interested in supplementing income from farm assets (e.g. creating employment options for household members, improving agricultural activities and revenue, and reducing households' dependence on nature (Carter, 1998; Bernardo, 2004; Veeck et al., 2006, cited by (Dinh et al., 2022)). Moreover, facing the life pressures caused by urbanization, industrialization, and most recently the global health crisis (COVID-19), more and more travelers around the world and also in Vietnam seek and experience AT. AT has thus become a favorite trend in the current tourism market.

Vietnam has a tradition of agricultural development with more than “65% of the population living in rural areas” (Dinh et al., 2022), so the country has many advantages to develop AT. Therefore, “Vietnam advocates the development of AT to build new countryside from 2021 to 2025” (Vietnam National Administration of Tourism, 2020). In Vietnam, the Mekong Delta region (MDR) is the country's largest agricultural production center (contributing to 50% of rice production, 65% of aquatic production, and 70% of Vietnam's fruit production; 95% of Vietnam's rice exports and 60% fish exports) (Vietnamese Government, 2017). In addition, the MDR has a favorable position in trade with ASEAN countries and the Mekong sub-region and has the advantage of tourism development thanks to its diverse natural and cultural tourism resources. AT is also one of the MDR's strengths. As a city directly under the Central Government, located in the center of the MDR, Can Tho City (CTC) focuses on tourism development with the goal of "turning CTC tourism into a spearhead economic sector, affirming the brand name of "sustainable development" (Committee of Can Tho, 2016). Characterized as an ecological city, CTC orients to develop AT products to create a highlight to attract domestic and foreign tourists. Forming focused AT product chains, CTC advocates linking with other localities in the MDR to improve product quality and tourism business efficiency, creating a "double effect" for the growth of the agriculture and tourism industry. Paradoxically, the current development status of CTC AT is still not outstanding. To solve this problem, attracting local farmers to actively and effectively participate in local AT activities is currently one of the main goals of AT development in CTC. Research on the factors affecting the decision to AT participation by farmers' households is therefore really necessary.

The present study, therefore, aims to (1) *explore the factors affecting the decision to participate in local AT activities of typical farmer households at CTC*; (2) *analyze and evaluate the order of importance of these factors discovered*; (3) *propose management implications to encourage farmers in CTC to attend more actively and effectively in local AT activities*.

## RESEARCH AND FINDINGS

### Materials

#### *Agritourism*

First appearing around the 80s of the twentieth century in Europe, AT is now growing in popularity in many countries around the world. Blacka et al. (2009) described “AT is the practice of attracting travelers or visitors to an area or areas used primarily for agricultural purposes. (...) AT can be viewed much like eco-tourism in that it is small-scale, low-impact, and, in most cases, education focused”. “Many AT activities require only a small farm crew in order to be successful. For instance, farm tours, bed and breakfasts, hay rides, petting zoos, and many other activities may be operated with little additional investment in labor.” Tew (2010) determined that AT is a term used for tourists/travelers/visitors who visit farms/attractions or agricultural production, and agricultural businesses. By focusing on agricultural resources and natural and cultural tourism resources of a destination, the purpose of AT tourists is to discover, raise awareness or relax. Preece (2015) has more clearly explained that AT is the activity of agricultural enterprises (maybe farmer households) in combination with the local community in a rural area to introduce to visitors/tourists about the production process and the heritage of local agriculture. AT products can be divided into four categories based on (1) Attraction associated with production (e.g. fields, farms, factories, agricultural tools, production processes; (2) Special events (e.g. exhibitions, fairs, conferences, seminars); (3) Entertainment activities (e.g. hiking, cycling, horse riding, picnic); (4) Other services (e.g. hospitality, camping, retail (goods, handicrafts), etc.). The United States Department of Agriculture (USDA) classifies AT activities including educational activities, hospitality, outdoor entertainment, agricultural products marketing, and product manufacture or sale (Dinh et al., 2022). Overall, agriculture and AT therefore always have mutual relationships. Agriculture facilitates the formation of tourism products to

serve the needs/demands of tourists, ensuring tourism development. In contrast, tourism contributes to promoting and consuming agricultural products, improving agricultural values, creating jobs, and increasing income for farmers, contributing to sustainable rural development (Preece (2015), cited by Dao (2020)).

### *Values of Agritourism*

Many studies have proven the valuable value that AT brings to the sustainable development of rural areas. When mass tourism presents negative aspects to the economic, social, and environmental development of a destination, alternative tourism-related solutions are more well-received. AT is an *alternative type of tourism* that exists in rural areas (Blacka et al., 2009). Most of the resources related to agro-ecology in rural areas have the potential to be used to increase their value. Indeed, to *enhance their competitiveness*, farms can reuse their existing resource advantages and turn them into new products or services that meet the trends and needs of the market (Coates et al., 2002). By researching the Global Important Agricultural Heritage Systems (GIAHS) as designated by the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) and listed by United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization (UNESCO) as agricultural heritage sites, Mi et al. (2014) have shown that by considering both conservation and development through tourism, careful development of heritage sites can create greater sustainability for traditional agriculture as well as for the dynamic conservation of agricultural heritage. According to the United States Natural Resources Conservation Service (NRCS), AT contributes to *a more sustainable agricultural system* because it allows farmers to integrate their family's agroecosystems with tourism businesses. Thereby, they are more conscious of conserving natural resources (e.g. soil, water, air, plants, wildlife, and landscapes) (SAREP, 2017), cited by Dinh et al. (2022)). "AT is needed nowadays to develop a regional potential in the form of natural resources in agriculture." (Utama, 2020). Saepudin et al. (2018) researched "Development strategy of education tourism in Cibodas village in West Bandung regency" and proved that AT is a type of tourism suitable for educational development dưới hình thức của educational tourism villages. Magnaye (2019) demonstrated "the relationship between edu-tourism and grassroots pro-biodiversity entrepreneurship considering the environmental conservation approach of the Climate Smart Agriculture (CSA)". In addition, the author determined "the potential financial and cultural gains of pro-biodiversity entrepreneurs from CSA edu-tourism as a basis in planning sustainable, climate-sensitive, and biodiversity-friendly grassroots enterprises."

Dao (2020) studied the current status and solutions to develop AT in CTC and proved that AT contributes to raising income for farmers. "Currently, localities that organize safety activities bring many benefits to local people, create jobs for workers, contribute to poverty alleviation, and create local budgets. In particular, AT also contributes to agricultural reproduction, increasing the value of agricultural products, consuming agricultural products in the form of local export with high economic efficiency, and exploiting and protecting the rural ecological environment." Kryukova et al. (2020) affirmed that AT in Russia is a promising type of tourism, allowing urban dwellers to relax with nature and integrate with the traditional lifestyle of rural residents. In addition, AT is also one of the important sources of income for farmers and does not require as much public investment as other forms of tourism. Su et al. (2020) took the example of the Duotian Agrosystem, a Globally Important Agricultural Heritage System (GIAHS) in China for their research, and revealed that integrating many agricultural heritage values with tourism is It is very important to enhance livelihood value for local people, maintain agricultural heritage system and rural community. Through analyzing the impact of participating in AT on the income of farm households in Lam Dong province, Vietnam, Nguyen (2021) demonstrated a significant difference in income between the two groups: the farmer households participating in AT had higher incomes than the farmers engaged in agricultural production alone. Ohe (2022) investigated farmer identity and the effect of tourism-oriented farm diversification and revealed that "educational tourism activity by dairy farmers can nurture a new business opportunity and lead to efficient farm resource allocation." Kusuma et al. (2022) revealed "the synergy between tourism and agriculture to increase the exchange rate of farmers in the Tabanan Regency area". According to Holland et al. (2022) "Small farms with survival challenges in the U.S. could consider AT as an enterprise to enhance their economic sustainability by utilizing touristic aspects of farming, rural landscape, and agriculture." Some other studies have also shown the ability to promote economic growth, agricultural output, and tourism



development thanks to AT such as Lawal et al. (2018); Ananya (2021); He et al. (2022); Cvijanović et al. (2022), etc.

***Empirical Research Regarding The Factors Affecting The Decision to Agri-tourism Participation by Farmers Households***

Research on factors affecting the decision to AT participation by farmers households has attracted many foreign and Vietnamese researchers.

McGehee and Kim (2007) explored the underlying gendered nature of the motivations for agritourism entrepreneurship among Virginia farm families. The findings of the research revealed that women displayed greater motivations towards AT entrepreneurship across all categories, though not always in a statistically significant manner or alignment with the established framework.

By utilizing a national farm survey and estimating a logit model, a study of Bagi and Reeder (2012) was able to recognize the elements that influence the involvement of American farmers in AT. According to the dummy variables, the most significant positive impact was observed in “public access to the farm for recreation”, followed by “farms located near central cities”, “farms situated in the Rocky Mountain and Southern Plains regions”, “farmers with a college education”, “farmers paying for farm advice”, “farms structured as partnerships or corporations”, “farms enrolled in conservation programs”, and “farmers having access to the internet”. Factors affecting participation as "continuous variables" included "acres of owned land", "percentage of land" that is unsuitable for crops, "operator age", and "distance to cities".

Jensen et al. (2014) examined the potential impact of AT operations' characteristics and perceived barriers on their plans for expansion by using a logit model. According to these authors, expansion plans may be influenced by various firm characteristics such as firm size, years in business, business type, and location factors. Several potential barriers that influenced expansion plans were found including labor issues, education assistance, and liability insurance thanks to the research findings.

By primarily examining family-owned Educational Dairy Farms in Japan, Ohe (2015) established statistically the correlation between a farmer's identity and their perception of educational tourism. Through the study, the author demonstrated that farmers with a broader perspective in the agricultural industry tend to hold a more positive attitude towards educational tourism than those with a narrower focus. The research also shed light on the views of the next generation of farm successors towards educational activities, specifically whether they perceive themselves as conventional milk producers or farm resource managers with a broader range of social demands that are linked to their identity as farmers. Also, as farm successors engage in tourism-related activities, the need for the latter redefinition will continue to grow.

Yeboah et al. (2017) utilized a logit model to estimate the factors that may influence the adoption of AT by small farmers in North Carolina. These authors revealed that the most influential research variables were "a college education"; "race"; "public access to the farm for recreation"; "farms with more than 50 acres of land deemed unsuitable for crop production, and the total amount of land owned". In addition to the “proximity of farms to cities”, the “willingness to pay for farm management advice” and “before-tax household income” were also found to have a significant influence on the adoption of AT enterprises.

Bhatta et al. (2019) explored the factors that motivated farmers before the adoption of AT and found a statistical correlation between elements related to tourism and agriculture. Specifically, the study indicated a connection between the types of tourists attracted and the farmers' willingness to share land resources. Furthermore, the potential agritourism practitioners in rural Nepal are those who are between 21 to 40 years old, have returned from foreign countries, frequently engage in community activities, and possess relatively high levels of education.

Nguyen (2021) analyzed the impact of participation in AT on farmers' household income in Lam Dong province. The Logistic model's research findings demonstrated that the household heads' educational factors formed distinct groups, as did the farm characteristics' factors, including labor, distance, loan, and farmer household income. Additionally, the farmers' awareness and attitudes towards AT,

investment opportunities, and income investment attraction were grouped together and influenced their decision to engage in AT in Lam Dong province.

By surveying agricultural households in Vietnam's Mekong Delta, Dinh et al (2022) identified several factors that influence AT participation. These included the level of support for local government policies, membership in farmer associations, unions, and extension clubs, awareness of the benefits of agritourism, various production models, Internet access, education level, membership in tourism associations, and travel organizations. Additionally, the distance between farms and AT destinations was found to be a significant factor.

Holland et al. (2022) examined the adoption of AT by small farms in the U.S. by studying the characteristics of adopters and examining the factors that influenced farmers' decisions to either incorporate or initiate AT activities, such as recreational, educational, and tourist attractions on their farms. According to these authors, AT adoption was more likely among small farms in the U.S. that engaged in social media marketing, incorporated smartphones in their farm activities, and possessed farm insurance. These factors, in conjunction with other demographic factors, had a significant impact on the likelihood of adopting agritourism. Moreover, the study insisted that a small farm's adoption of AT was positively influenced by the farmer's perception of survival risk. This suggested that small farms might be more inclined to adopt AT as a means of sustaining their operations and ensuring their long-term viability.

#### ***Foundation Theory Framework Related to Factors Affecting The Decision to Agri-tourism Participation by Farmers Households***

This theoretical model was referenced from the research of Dinh et al (2022) because these ideas were relevant to the present study as they explain agritourism's nature, farmers' behavior, and why they participate in rural tourism development's AT model.

(1) Ajzen's *Theory of Reasoned Action* (1991) stated that individual attitudes and subjective norms affect behavioral intentions, which in turn influence behavior. This model is often used to predict future behavior based on prior attitudes and intentions, and numerous studies have shown a strong correlation between behavioral intention and behavior. However, there is still ongoing debate regarding the direct link between intention and actual behavior in certain circumstances.

(2) Ajzen's theory of *Planned behavior* (1991) identified three factors that influence the intention to perform an action: attitude toward the behavior, subjective norms, and perceived behavioral control. This theory evolved from the concept of rational action and recognizes the importance of personal factors, social pressure, and self-efficacy in shaping behavioral intentions. Attitudes, subjective norms, and cognitive behavioral control are crucial determinants of behavioral intentions, according to this theory.

(3) The *Useful Perception Theory* suggests that farmers may view new technical solutions in agriculture as riskier than traditional methods, leading to the delayed application when uncertain about their effectiveness and utility. Access to official information can reduce risk and uncertainty, increase perceived effectiveness and utility, and encourage farmers to adopt new applications. Feder et al. (1981) demonstrated this relationship.

(4) The *Social Representation Theory* suggests that involving the community in rural tourism development promotes sustainable development. Social representation is a collection of information, values, and images shaped by media, social interaction, and experience, and social consensus influences attitudes toward a subject. (Rateau, 2011; Pearce, 1996).

(5) The *Center-Periphery Theory* suggests that well-endowed regions can expand by using the resources of neighboring regions. Innovation in one community can lead to spillover effects in another (Gren, 2003; Yates, 2001).

Based on the theoretical framework and previous empirical studies presented by the authors, this study has derived a set of draft criteria for factors influencing the decision to participate in agrotourism by farmers. Then, to identify specific criteria that suit the characteristics of AT in CTC, this study conducted in-depth interviews with (n= 18) experts who are representatives of tourism and agriculture management

in CTC. This set of criteria included: (1) *Human capital* (age, education level of the farmer household head); (2) *Physical capital* (agricultural ecological environment (e.g. land area, production model), internet accessibility, income); (3) *Social capital* (participation in farmer and tourism associations/clubs and contact with agricultural and tourism officers); (4) *Perceived usefulness* (values of AT for rural development); (5) *Market* (market demand, market accessibility, favorable local resources (e.g. infrastructure, utilities)); and (6) *Local authorities' support* (policies, management).

### Research Model and Research Hypothesis

After identifying draft factors and conducting in-depth interviews with experts, the author developed the following research model for CTC Vietnam. The purpose of this study is to expand the theory, identify new factors to supplement previous findings, and evaluate the importance of these factors to propose appropriate management implications to stimulate the positive and effective participation of local farmers in AT.

Figure 1. Research model.



Source: From the author (2023).

The *research hypotheses* were proposed based on previous experimental research and in-depth interviews with experts:

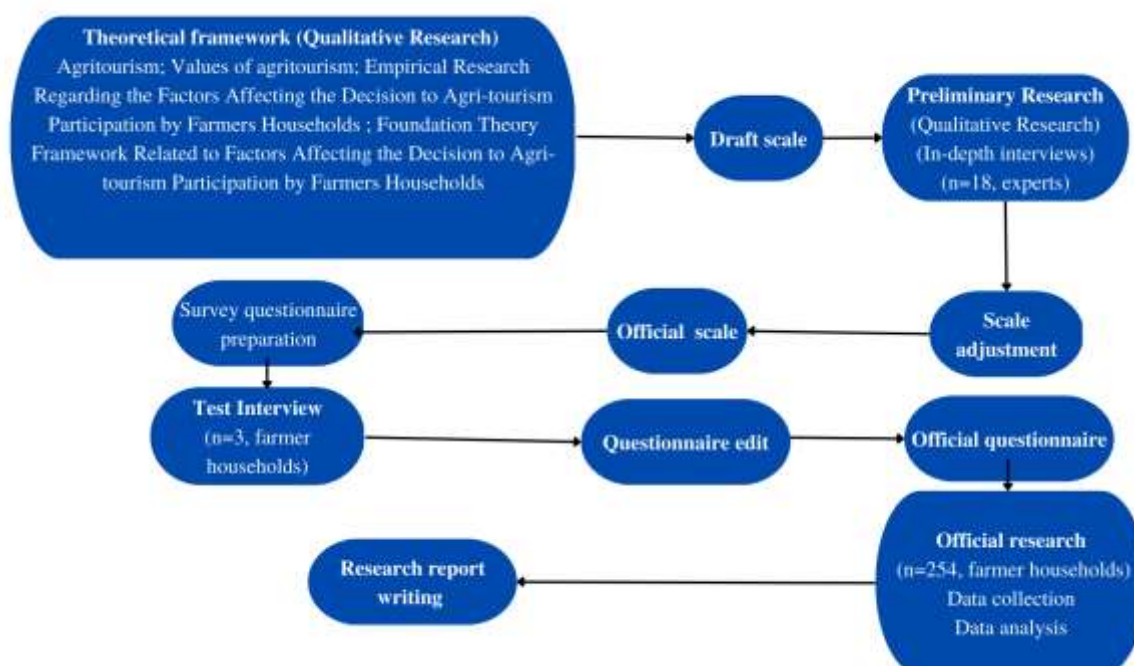
- (H1) "Human capital" factor positively affects "Farmers' decision to participate in AT".
- (H2) "Physical capital" factor positively affects "Farmers' decision to participate in AT".
- (H3) "Social capital" factor positively affects "Farmers' decision to participate in AT".
- (H4) "Perceived usefulness" factor positively affects "Farmers' decision to participate in AT".
- (H5) "Market" factor positively affects "Farmers' decision to participate in AT".
- (H6) "Local authorities' support" factor positively affects "Farmers' decision to participate in AT".

### Methods

The CTC in Vietnam was chosen for this study, which gathered data through two methods: (1) A *qualitative survey* using documentary research and in-depth interviews with 18 representatives from the tourism and agriculture industries in the CTC; (2) A *quantitative survey* involving participatory fieldwork and a sample survey of 254 typical farming households engaged in AT activities across 05

urban districts and 04 rural districts of the CTC. The research data collected was analyzed and evaluated, leading to specific management implications.

**Figure 2.** Research process.



Source: From the author (2023).

The study comprised four stages (Figure 2):

- (1) creating a draft scale from a qualitative study to measure concepts in the research model (Figure 1).
- (2) The author refined the draft scale, including observed variables, by conducting in-depth interviews with 18 experts from CTC's tourism and agriculture sectors. The author then tested the questionnaire's relevance with a non-random convenience sample of three farmer households in CTC before making adjustments and adopting it as the official questionnaire.
- (3) Using an official survey questionnaire containing 25 questions (including multiple-choice and open-ended), the author re-tested the scales in the research model. From June to December 2022, 254 farmer households engaged in AT activities in CTC's urban and rural districts received the questionnaires. To ensure reliable data, the author chose a non-random sample size of 254, which is larger than the minimum required sample size of 180 (calculated as 36 observed variables x 5) (Trong & Ngoc, 2008) using a judgment technique.
- (4) The primary data obtained from the official survey was analyzed using SPSS 20.0 for descriptive statistics, SMARTPLS 3.0 software for *Partial Least Squares* (PLS) algorithm to evaluate the measurement model (including *Composite reliability*: (CR) and Cronbach's Alpha (CA) coefficients; *Convergence value*: Regression coefficient  $\beta$  and P-value, Average Variance Extracted (AVE); *Discriminant value*: Conditional region (Fornell and Larcker's conditional region, and Variance Inflation Factor (VIF), and *SEM tests* (including Multicollinearity Test, Effect Size Index, Communality Value, and Goodness of Fit).

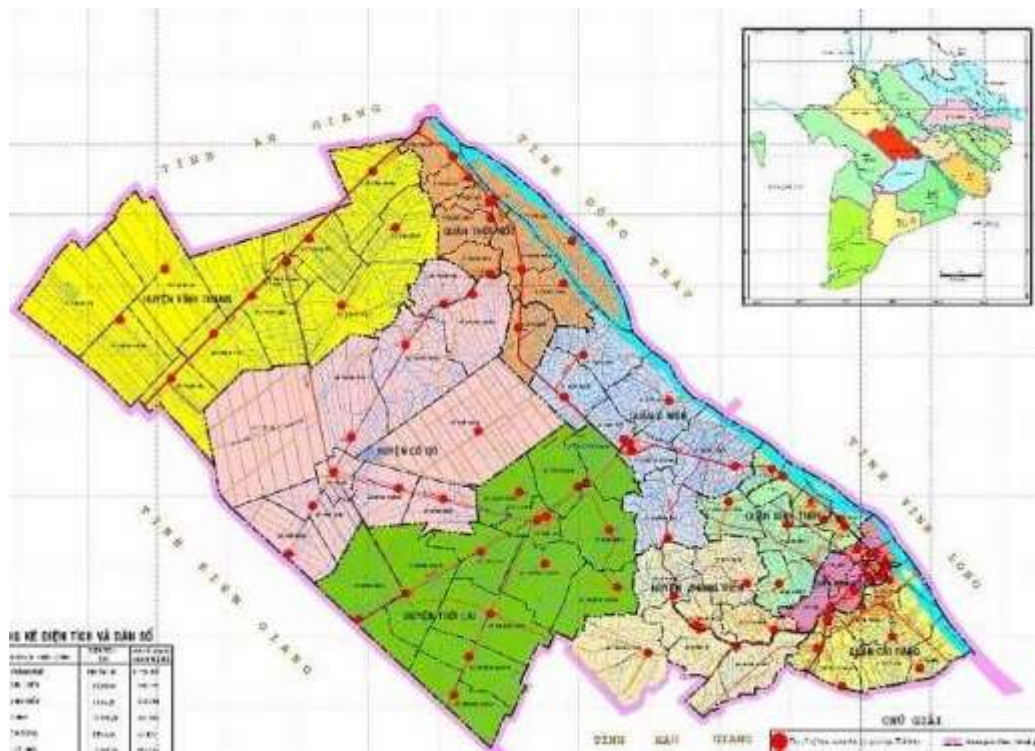
## Findings and Discussion

### The Potential and Current Status of Agri-Tourism Development in Can Tho City, Vietnam

#### *The Potential of Agri-Tourism Development in Can Tho City*

Can Tho<sup>1</sup> is a city located in the Mekong Delta region of southern Vietnam. It is the fifth-largest city in Vietnam, with an estimated population of over 1.2 million people. The city comprises 09 administrative units (05 urban districts and 04 rural districts). Ninh Kieu district is the city center, while Binh Thuy, O Mon, Thot Not, and Cai Rang districts serve as inner districts. The rural districts include Phong Dien, Co Do, Thoi Lai, and Vinh Thanh. The city is known for its floating markets, rice paddies, and fertile agricultural lands. Its economy is primarily based on agriculture, aquaculture, and tourism. Can Tho is also a major transportation hub in the region, with a busy international airport and an extensive network of waterways connecting it to other parts of the Mekong Delta.

**Figure 3.** The administrative map of Can Tho City, Vietnam.



Source: <http://diego-rivera.com/>

Being located in the Mekong Delta region of Vietnam and being known for its fertile agricultural land and abundant water resources, the city is home to a diverse range of agricultural products, including rice, fruits, vegetables, and seafood. With its natural beauty and rich agricultural heritage, Can Tho has great potential for AT development. Some of the key attractions<sup>2</sup> that could draw tourists include:

(1) *Floating Markets*: Can Tho is famous for its floating markets, where farmers and traders gather to sell their produce directly from their boats. The Cai Rang Floating Market is the largest and most popular market in Can Tho, and is a must-visit destination for tourists.

(2) *Fruit Orchards*: Can Tho is home to many fruit orchards, where visitors can see how fruit is grown, harvested, and processed. Some popular fruit orchards in the area (e.g. Phong Dien, Cai Rang, Binh Thuy, Thot Not, etc.)

<sup>1</sup> Source: [www.cantho.gov.vn](http://www.cantho.gov.vn)

<sup>2</sup> Source: [www.canthotourism.vn](http://www.canthotourism.vn)

(3) *Rice Fields*: Can Tho is also known for its rice fields, which stretch out as far as the eye can see. Visitors can take a guided tour of the rice fields, learn about rice cultivation, and even try their hand at planting and harvesting rice.

(4) *Seafood*: Can Tho is situated on the Hau River, which is a major source of seafood for the region. Visitors can take a boat trip to see how fishermen catch their fish, and then enjoy a delicious seafood meal at a local restaurant.

(5) *Homestays*: For a more immersive experience, visitors can stay with local families in their homes and learn about their daily life and traditions. This type of accommodation is becoming increasingly popular in Can Tho, and is a great way to experience the local culture and way of life.

(6) *Sandbanks or isles*: CTC boasts sandbanks on the river, called "isle", "cù lao" or "còn," such as Tan Loc, Son, Khuong, and Au. These fertile areas with fresh fruit orchards and local cultural features make them perfect for AT. For example, Son isle, in Binh Thuy district, is an appealing spot for tourists with fruit orchards and 25 fish farms. Tan Loc isle, in Thot Not district, has potential for tourism with ancient relics, fruit orchards, aquaculture, and local rustic life. Its traditional fruit festival during the Doan-Ngo holiday is a significant cultural-tourism event.

According to Dao (2020), Can Tho is currently promoting the development of urban and high-tech agriculture, with the Khu I located at the Can Tho Agricultural Center being a 20-hectare central research and production area for new technologies, and Khu II and III serving as supporting areas located at the Song Hau and Co Do Agricultural Companies. In addition, Can Tho is a member of the MDR zone implementing the Sustainable Agriculture Transformation project in Vietnam, which was funded by the World Bank from 2016 to 2020. The project established sustainable agriculture models on 30,000 hectares of rice fields in 16 communes across three districts, involving 25,000 farmers, aiming to increase profits by over 30% and reduce environmental damage. Can Tho also introduced high-tech production methods for various crops, including transforming inefficient rice fields into fruit orchards and promoting water-saving irrigation methods in multiple districts. The Department of Agriculture and Rural Development, along with Can Tho University and the Mekong Delta Rice Research Institute, are prioritizing urban and high-tech agriculture projects. These include applying biotechnology for breeding safe vegetables, developing agricultural seedlings, and enhancing mechanization in production. CTC joined the "Smart Agriculture and Safe Food through Artificial Intelligence" project in 2018 with the University of Technology, Polytechnic, and the Kyushu Institute of Technology (Japan). The project focuses on developing complete systems for smart agriculture, AI algorithms, and deploying robots to replace humans in monitoring, identifying and improving crop quality, leading to high-quality agricultural products and new directions for high-tech AT in the 4.0 revolution. The city has developed various urban agriculture models linked to its green belt plan, such as flower villages and high-tech urban agriculture. Clean vegetable models using hydroponics and net houses, mushroom production, VietGap vegetable cooperatives, and clean farming models have also been established. Ornamental fish farming has been restored in different locations.

CTC now has 200 ha of safe aquaculture farms (e.g. VietGAP, BMP, ASC, BAP), over 100 ha of VietGAP-certified fruit and vegetable fields, and clean agriculture orchards. The city has created focused zones for rice, fruit, vegetable, and ornamental plant production. Various livestock and aquaculture models ensure market demand and product value by adhering to food and biological safety standards (Huynh Bien, 2019). Moreover, CTC's infrastructure and location make it ideal for developing both general and agricultural tourism. As a transportation hub, it is easy to connect with other Mekong Delta destinations, and it has over 270 tourist accommodations with nearly 7,000 rooms, including luxury hotels and conference centers with modern facilities<sup>3</sup>.

Overall, CTC has great potential for AT development, thanks to its unique natural resources and rich cultural heritage, as well as the investment and development interest of the city government.

---

<sup>3</sup> Source: [www.canthotourism.vn](http://www.canthotourism.vn)

### *The Current Status of Agri-Tourism Development in Can Tho City*

Tourism in Can Tho has seen positive changes with significant increases in visitors. From 2015 to 2018, the number of tourists grew to 8.5 million, including over 730,000 international visitors. In 2019, 8.8 million tourists visited Can Tho, generating revenue of over VND 4,435 billion. Agricultural tourism, particularly garden tourism, has also made significant progress, with homestays in districts such as Phong Dien, Binh Thuy, etc. offering visitors various experiences. (Dao, 2020).

According to the Vietnam National Tourism Administration's Information Center (2023)<sup>4</sup>, Phong Dien district in CTC boasts 10 garden tourist attractions, including 6 homestay accommodations. My Khanh tourism village is the district's most successful ecotourism destination, established in 1999 on a 3-hectare garden by Mr. Le Van Sang. It offers diverse tourist products such as fruit and ornamental plant garden tours, fruit tasting, and various folk games, and is known for its popular activities like "A day as a farm owner" and "A day as a farmer". The district's other garden tourist attractions attract many visitors, especially foreigners, who can experience traditional cooking and observe the daily life of the locals. Visitors can also enjoy unique experiences such as selling agricultural products at the Phong Dien floating market with the program "A day as a trader", and homestay accommodations at Muoi Cuong. Additionally, the cocoa garden offers visitors the opportunity to harvest and process cocoa fruits and make traditional Southern dishes with the host family. In addition, tourists at Ut Hien and Hung Ecotourism Gardens in Cai Rang District can simulate life as Southern farmers by planting vegetables, caring for the garden, fishing, and cooking traditional Vietnamese dishes. Bao Gia Farm in the same district emphasizes culturally and environmentally friendly AT with interactive experiences, including programs for pupils, students and workshops on traditional crafts. Participants can freely express their creativity through activities such as wooden painting, natural fiber bag making, and vegetable dyeing. Furthermore, Con Son in Binh Thuy district offers unique topography in the middle of the Hau River, rich cultural heritage, fruit orchards, and peaceful surroundings, making it ideal for agricultural tourism. Tourism in Con Son has grown due to its strengths in fruit orchards, fish ponds, river ports, and traditional lifestyle. 16 households offer community tourism, while others provide services like boat tours, fish farming, and selling processed seafood. Families collaborate to showcase their strengths, offering diverse services such as a community dining experience and traditional baking activities. "Flying snakehead fish," a signature dish created by Mr. Le Van Tin, has become a highlight of CTC's tourism. In Tan Loc isle (Thot Not district), households are exploring AT by utilizing their existing fruit gardens and ornamental plants, achieving initial successes. Each garden also develops unique tourism products to enhance competitiveness. For instance, Son Ca Garden offers "Six-pointed star apple wine," "Mrs. Diep" guava garden offers guava wine and dishes, and "Mr. Thong" grape garden offers Jaboticaba grapes and rare plant species.

In summary, the current state of AT development in CTC has shown significant progress but also some drawbacks, including spontaneous development of AT, lack of skilled labor, simplistic tourist products, inconsistent local government support, inadequate coordination between agriculture and tourism, limited farmer awareness, underdeveloped rural tourism infrastructure, and ineffective marketing and promotion (Dao, 2020).

### **Factors Affecting Agri-Tourism Participation By Farmer Households in Can Tho City, Vietnam**

#### **Demographics**

The author of the present study collected 248 complete questionnaires from the 254 sent, surpassing the minimum sample size requirement and enabling further analysis using SPSS 20.0.

---

<sup>4</sup> Source: [www.vietnamtourism.gov.vn](http://www.vietnamtourism.gov.vn)

**Table 1.** Demographics of research sample (n=248).

		Frequency	Percent (%)
<b>Gender of the Farmer Household Head</b>	Female	62	25
	Male	186	75
<b>Age of the Farmer Household Head</b>	18-25 years old	12	4.8
	26-35 years old	92	37.1
	36-50 years old	112	45.2
	51-60 years old	24	9.7
	> 61 years old	8	3.2
<b>Educational Level</b>	Primary education	35	14.1
	Secondary education	62	25
	Tertiary education	57	23
	Vocational training	76	30.6
	Others	18	7.3
<b>Total</b>		248	100.0

Source: From the author (2023)

### Testing The Measurement Model

The measurement model was validated as indicated by the findings. The observed variables' factor loading coefficients satisfied the convergence condition, with all coefficients greater than 0.7. The reliability of the scales was satisfactory, with CR ranging from 0.866 to 0.986 and AVE ranging from 0.598 to 0.789. Discriminant validity was confirmed, with the square root value of AVE larger than corresponding correlation coefficients of each concept compared to others in the research model. Additionally, the measurement achieved discriminant value for the concepts, with cross-load coefficients larger than other concepts. The Heterotrait-Monotrait Ratio values for each structure were lower than 0.9, validating the criterion of discriminant validity for the HTMT.

### Evaluating The Structural Model

**Testing Multicollinearity in Partial Least Squares Structural Equation Modeling (PLS-SEM):** The findings indicated no multicollinearity among latent variables, with VIF coefficients below the threshold of 5 (max VIF=2.184, min VIF=1.925). "Farmers' decision to participate in AT in CTC" had a strong influence on the research model with an R2 value of 0.468 (greater than 0.26).

**Communality Value:** The AVE values (>0.5) indicated good agreement between the structural model and experimental data.

**Goodness of Fit (GoF):** The GoF index (0.524 > 0.36) had a significant influence on the model.

In summary, the PLS model aligned well with the experimental data, based on data analysis findings.



### Testing The Research Hypotheses and Determining The Relative Importance of The Discovered Factors

The author confirmed six research hypotheses and measured six factors that influence farmers' decision to participate in AT at CTC, including (1) Human Capital, (2) Physical Capital, (3) Social capital, (4) Perceived usefulness, (5) Market, and (6) Local authorities' support. All six hypotheses were confirmed, and the research model explained 46.8% of the variation in farmers' decision to participate in AT in CTC ( $R^2 = 0.468$ ).

*(H1) "Human capital" factor positively affects "Farmers' decision to participate in AT".*

H1 was validated as the regression coefficient  $\beta = 0.148$ ,  $P\text{-value} = 0.046 < 0.05$ . Among the six factors positively affecting farmers' decision to participate in AT, "Human capital" was rated *6th*, with the highest ratings given to "Education level of the farmer household head" and "Age of the farmer household head" (Mean Value = 3.12 and 3.1, respectively). Therefore, "Education level and Age of the farmer household head" played an important role in "Human capital" affecting "Farmers' decision to participate in AT".

*(H2) "Physical capital" factor positively affects "Farmers' decision to participate in AT".*

Regression coefficient  $\beta = 0.164$ ,  $P\text{-value} = 0.024 < 0.05$ , confirming H2. Farmers Households rated "Physical capital" *second* among six factors impacting "Farmers' decision to participate in AT", with elements "Agricultural ecological environment," "income," and "internet accessibility" receiving the highest ratings (Mean Value = 3.44, 3.42, and 3.4, respectively). These results underscore the importance of these elements in "Physical capital" affecting farmers' decisions to participate in AT.

*(H3) "Social capital" factor positively affects "Farmers' decision to participate in AT".*

The findings validated H3 as the regression coefficient  $\beta = 0.152$ ,  $P\text{-value} = 0.032 < 0.05$ . Farmers rated "Social capital" as the *5th* factor positively affecting their decision to participate in AT, with "Participation in agriculture associations/clubs and contact with agricultural officers" and "Participation in tourism associations/clubs and contact with tourism officers" receiving the highest ratings (Mean Value = 3.23 and 3.21, respectively). Thus, "Participation in farmer and tourism associations/clubs and contact with agricultural and tourism officers" played an important role in "Social capital" affecting farmers' decision to participate in AT.

*(H4) "Perceived usefulness" factor positively affects "Farmers' decision to participate in AT".*

The research results validated H4 as Regression coefficient  $\beta = 0.163$ ,  $P\text{-value} = 0.026 < 0.05$ . "Perceived usefulness" ranked *third* among six factors positively affecting "Farmers' decision to participate in AT". "Economy", "Environment", and "Society" rated highest in "Perceived usefulness" with mean values of 3.3, 3.28, and 3.27, respectively. Results emphasized the significant role of "Awareness of sustainable economic, environmental and socio-cultural values that AT brings to the rural development" in "Perceived usefulness" impacting "Farmers' decision to participate in AT".

*(H5) "Market" factor positively affects "Farmers' decision to participate in AT".*

H5 was validated as Regression coefficient  $\beta = 0.159$ ,  $P\text{-value} = 0.003 < 0.05$ . Farmers rated "Market" *4th* out of 6 factors positively affecting their decision to participate in AT. "Favorable local resources," "Market demand," and "Market accessibility" had the highest ratings (Mean Value = 3.27, 3.22, and 3.21, respectively), highlighting their importance in "Market" affecting "Farmers' participation in AT".

*(H6) "Local authorities' support" factor positively affects "Farmers' decision to participate in AT".*

The study confirmed H6 with  $\beta = 0.307$ ,  $P\text{-value} = 0.004 < 0.05$ . "Local authorities' support" ranked *highest* among six factors positively influencing farmers' participation in AT, with "policies" and "management" scoring the highest mean values of 3.45 and 3.43, respectively. These findings highlight the significance of "policies" and "management" in "Local authorities' support" for promoting farmers' participation in AT.

## CONCLUSION AND RECOMMENDATION

In summary, the research findings have helped to address the research objectives. The study identified six factors in descending order of importance that affect farmers' decision to participate in local AT activities: (1) Local authorities' support (including policies, management); (2) Physical capital (including agricultural ecological environment (e.g. land area, production model), internet accessibility, income); (3) Perceived usefulness (including the values of AT for rural development); (4) Market (including market demand, market accessibility, favorable local resources (e.g. infrastructure and utilities)); (5) Social capital (including participation in farmer and tourism associations/clubs and contact with agricultural and tourism officers); (6) Human capital (including age, education level of the farmer household head).

The research's actual findings led to proposed management implications for stakeholders to encourage active participation of agricultural households in local AT activities, promoting the economic model in the study area.

*Firstly*, developing a plan to link and develop agritourism: To limit the situation of spontaneous, small-scale, and unprofessional development, local authorities should closely coordinate with tourism, travel, restaurant, and hotel businesses to plan and connect rural households in AT activities. The community tourism model can be applied in developing AT in rural areas.

*Secondly*, improving the quality and quantity of human resources serving AT (Jensen et al., 2014): To solve the problem of a shortage of service personnel, especially during the peak tourism season, authorities at all levels can have more practical policies to support farmers in investing in tourism development (e.g. low-interest loans for farmers, legal advisory support, linkage with training organizations to organize short-term training courses, organize exchange sessions, learn from the experience of AT farmers in neighboring provinces/cities, etc.)

*Thirdly*, improving the quality of AT products: To create differentiation compared to competing counterparts, AT products need to have distinctive features: for example, promoting the labeling and packaging of agricultural products, souvenirs, and local specialties; registering trademarks for products; improving product quality to stimulate customer attention. AT activities should be designed to reduce the seasonal nature of agricultural production. Developing off-season crops and arranging scattered crops or coordinating households to maintain products serving tourism needs to be focused on helping farmers maintain continuous activities in AT.

*Fourthly*, timely, quickly, and consistently support from local authorities is necessary: The strong and proactive involvement of local authorities will be the most powerful motivation to encourage the decision to participate in the tourism activities of local farmers as the results of the study have demonstrated.

*Fifthly*, raising the awareness of farmers about the necessity of combining agricultural and tourism activities as Blacka et al., (2009); Bagi & Reeder (2012); and Mi et al. (2014) proved: This helps them eliminate the fear and concern about the negative impacts of tourism activities that may affect their current agricultural production activities. Farmers with a wider perspective in the agriculture industry tend to have a more positive attitude towards participating in agri-tourism and educational tourism activities compared to those with a narrower view (Ohe, 2015; Bhatta et al., 2019). Authorities at all levels should disseminate knowledge and policies that encourage people to combine agricultural production and tourism activities as well as facilitate the participation of local farmers in agricultural and tourism clubs and groups.

*Sixthly*, the coordination between the agriculture and tourism sectors to develop AT needs to be more cohesive. The partnership and support of travel companies play an important role alongside the support of local governments. This collaboration will help farmers be more proactive in attracting tourists, with the number and quantity of visitors ensuring support for the development of AT models. *Seventhly*, developing tourism infrastructure in rural areas is crucial (Bagi & Reeder, 2012; Yeboah et al., 2017). Upgrading the transportation system, with smooth traffic flow, convenient boat docks and parking lots, and modern local tourism services (Bagi & Reeder, 2012; Yeboah et al., 2017; Dinh et al., 2022), will meet the needs of tourists. This helps attract visits, satisfaction, loyalty, and intentions to return.

*Eighthly*, boosting marketing and promoting AT should be a joint and appropriate strategy between local governments and farmers to increase visibility of destination advantages and images (Holland et al., 2022).

*Finally*, environmental protection should be a focus. Adequate investment in public toilets, waste treatment systems, and wastewater in AT development areas is necessary.

Overall, the study identified and evaluated the main factors influencing farmers' AT participation through experimental evidence and model testing. It also demonstrated the varying levels of importance of these factors. This study contributes to expanding the theoretical framework regarding factors that influence the decision of agricultural households in CTC, Vietnam to participate in AT. The proposed suggestions can be applied by stakeholders in agriculture and tourism management to stimulate active and effective participation of agricultural households in local AT development.

### **Limitations and Future Research**

However, the study has certain limitations, as the sample size only includes 248 agricultural households in CTC, Vietnam, which may limit the generalizability of the findings. This opens up suggestions for future research, such as exploring and comparing this research topic in different provinces and regions of Vietnam or in other countries with potential for AT development worldwide. Additionally, future studies may discover additional criteria that influence farmers' decision to participate in AT, enriching the related literature on this topic.

### **REFERENCES**

#### **English**

Blacka, A. E., Couture, P., Coale Jr, C. W., Dooley, J. E., Hankins, A. G., Lastovica, A. M., ... & Uysal, M. (2009). Agri-tourism. Communications and Marketing, College of Agriculture and Life Sciences, Virginia Polytechnic Institute and State University, 30 pages.

Bhatta, K., Itagaki, K., & Ohe, Y. (2019). Determinant factors of farmers' willingness to start agritourism in rural Nepal. *Open Agriculture*, 4(1), 431-445.

Christine Tew (2010), Importance of Agritourism for agriprenuer goal accomplishment, Thesis of Faculty of Graduate School University of Missouri.

Chau, H. N. M., Tien, T. A., & Vu, T. (2023). Agricultural tourism activities in the Mekong Delta from the perspectives of domestic tourists. *VNUHCM Journal of Social Sciences and Humanities*, 6(4), In press. <https://doi.org/https://doi.org/10.32508/stdjssh.v6i4.778>

David Preece (2015), Agritourism: An American Perspective, APO Agritourism Conference Presentations - West Java Indonesia, July 28, 2015. 5.

Cvijanović, G., Bajagić, M., & Cvijanović, D. (2022). THE IMPORTANCE OF SUSTAINABLE AGRICULTURAL PRODUCTION FOR THE DEVELOPMENT OF RURAL TOURISM. *KNOWLEDGE-International Journal*, 55(1), 33-38.

Dinh, H. P., Vo, P. H., Pham, D. N., & Ngo, T. Q. (2022). Factors affecting farmers' decisions to participate in agricultural tourism activities: A case study in the Mekong Delta, Vietnam.

Holland, R., Khanal, A. R., & Dhungana, P. (2022). Agritourism as an alternative on-farm enterprise for small US farms: Examining factors influencing the agritourism decisions of small farms. *Sustainability*, 14(7), 4055.

He, H., Wang, S., Tuo, S., & Du, J. (2022). Analysis of the effect of rural tourism in promoting farmers' income and its influencing factors—Based on survey data from Hanzhong in Southern Shaanxi. *Sustainability*, 14(3), 1289.

Jensen, K. L., Bruch Leffew, M., Menard, R. J., & English, B. C. (2014). Analysis of factors influencing agritourism businesses perceptions about expansion. *Journal of Food Distribution Research*, 45(856-2016-58143), 118-134.

Kryukova, E. M., & Khetagurova, V. S. (2020). Recommendations for the development of the tourism and hospitality industry in the Russian Federation: agricultural tourism. *Economic and Social Development: Book of Proceedings*, 279-288.

Khanal, A. R., Honey, U., & Omobitan, O. (2020). Diversification through 'fun in the farm': Analyzing structural factors affecting agritourism in Tennessee. *International Food and Agribusiness Management Review*, 23(1), 105-120.

Kusuma, B. A., Yuliarmi, N. N., & Purwanti, P. A. P. (2022). Synergy of tourism and agriculture in increasing the exchange rate of farmers in Tabanan District: a critical review. *International Journal of Applied Sciences in Tourism and Events*, 6(2), 173-182.

Mi, T., Qingwen, M., Hui, T., Zheng, Y., Lu, H., & Fei, L. (2014). Progress and prospects in tourism research on agricultural heritage sites. *Journal of Resources and Ecology*, 5(4), 381-389.

Magnaye, D. C. (2019). Climate Smart Agriculture Edu-tourism: A Strategy to Sustain Grassroots Pro-biodiversity Entrepreneurship in the Philippines. In *Cultural Sustainable Tourism: A Selection of Research Papers from IEREK Conference on Cultural Sustainable Tourism (CST), Greece 2017* (pp. 203-218). Springer International Publishing.

McGehee, N. G., & Kim, K. (2004). Motivation for agri-tourism entrepreneurship. *Journal of travel research*, 43(2), 161-170.

McGehee, N. G., Kim, K., & Jennings, G. R. (2007). Gender and motivation for agri-tourism entrepreneurship. *Tourism Management*, 28(1), 280-289.

Nguyễn, D. T. (2021). Analysis of the impact of participation in agritourism on farmers household's income in Lam Dong province. *VNUHCM Journal of Economics, Business and Law*, 5(2), 1524-1534.

Ohe, Y. (2015). Attitudes of successors in dairy farms toward educational tourism in Japan. In *Marketing Places and Spaces* (Vol. 10, pp. 33-44). Emerald Group Publishing Limited.

Ohe, Y. (2017). Assessing managerial efficiency of educational tourism in agriculture: case of dairy farms in Japan. *Sustainability*, 9(11), 1931.

Ohe, Y. (2022). Investigating farmer's identity and efficiency of tourism-oriented farm diversification. *Tourism economics*, 28(2), 535-558.

Su, M. M., Dong, Y., Wall, G., & Sun, Y. (2020). A value-based analysis of the tourism use of agricultural heritage systems: Duotian Agrosystem, Jiangsu Province, China. *Journal of Sustainable Tourism*, 28(12), 2136-2155.

Saepudin, E., Budiono, A., & Halimah, M. (2018). Development strategy of education tourism in Cibodas village in West Bandung regency. *Journal of Environmental Management & Tourism*, 9(8 (32)), 1684-1695.

Utama, A. A. G. S. (2020). Design of agro-education tourism accounting information system. *South Asian J. Eng. Technol*, 2(6), 54-61.

Yeboah, A., Owens, J., Bynum, J., & Okafor, R. (2017). Factors influencing agritourism adoption by small farmers in North Carolina. *Journal of Agricultural Extension and Rural Development*, 9(5), 84-96.

### **Vietnamese**

Dao, N.C. (2020). Phát triển du lịch nông nghiệp ở Cần Thơ. Trong Tài liệu Hội thảo khoa học Phát triển chuỗi giá du lịch nông nghiệp ở Đồng Bằng Sông Cửu Long trong mối quan hệ liên kết vùng theo định hướng phát triển bền vững giai đoạn 2020-2030. Đại Học Quốc Gia Thành Phố Hồ Chí Minh, 20-33.

Huỳnh Biển (2019). Khai thác mô vàng du lịch nông nghiệp. Truy cập tại địa chỉ <https://baocantho.com.vn/khai-thac-mo-vang-du-lich-nong-nghiep-a111479.html> ngày 23 tháng 2 năm 2023.

Ngo, T.P.L., & Nguyen, T.V.H. (2020). Thực trạng liên kết vùng trong phát triển du lịch nông nghiệp tại Đồng Bằng Sông Cửu Long. Trong Tài liệu Hội thảo khoa học Phát triển chuỗi giá du lịch nông nghiệp ở Đồng Bằng Sông Cửu Long trong mối quan hệ liên kết vùng theo định hướng phát triển bền vững giai đoạn 2020-2030. Đại Học Quốc Gia Thành Phố Hồ Chí Minh, 1-7.

Thành ủy Cần Thơ. (2016). Nghị quyết số 03-NQ/TU ngày 01/8/2016 “về đẩy mạnh phát triển du lịch”. Truy cập tại <http://bantuyengiao.cantho.gov.vn/article/nghiquyet-so-03-nq-tu-ngay-01-8-2016-ve/6256.htm> ngày 12 tháng 2 năm 2023.

Trọng, H. & Ngọc, C.N.M. (2008), Phân tích dữ liệu nghiên cứu với SPSS, nhà xuất bản Hồng Đức, Thành phố Hồ Chí Minh.

UBND TP. Cần Thơ. (2015). Quyết định số 1358/QĐ-UBND ngày 12/5/2015 phê duyệt “điều chỉnh quy hoạch tổng thể phát triển du lịch thành phố cần thơ đến năm 2020, định hướng đến 2030”. Truy cập tại <https://thuvienphapluat.vn/van-ban/van-hoa-xahoi/Quyết-dinh-1358-QĐ-UBND-2015-Quy-hoach-phat-trien-du-lich-2020-2030-Can-Tho274074.as> ngày 12 tháng 2 năm 2023.

### Websites

[www.canhotourism.vn](http://www.canhotourism.vn)

[www.cantho.gov.vn](http://www.cantho.gov.vn)

[www.vietnamtourism.gov.vn](http://www.vietnamtourism.gov.vn)

**KEDİLERDE KRONİK BÖBREK YETMEZLİĞİ OLGULARINDA KÖK HÜCRE  
KULLANIMININ PROGNOZA ETKİLERİ: BİR OLGU SUNUMU**

**THE EFFECTS OF STEM CELL USE ON PROGNOSIS IN PATIENTS WITH CHRONIC  
RENAL FAILURE IN CATS: A CASE REPORT**

*Osman Safa TERZİ<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Ankara Üni. Veteriner Fak. İç Hastalıkları AD, Ankara, Türkiye*

<sup>1</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7877-8897>*

*Akife Kaya<sup>2</sup>*

<sup>2</sup>*Referans Hayvan Hastanesi, Ankara, Türkiye*

<sup>2</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7858-9423>*

**ABSTRACT**

A mix breed, 12 years old female cat was diagnosed with chronic renal failure at the age of 10.5 in Ankara University Faculty of Veterinary Medicine Animal Hospital Small Animal Clinic. At the diagnosis stage, the creatinine value is 2.16 mg/dl (0.8-1.8), and the blood urea nitrogen value is; 35.60 mg/dl (19.97-29.96) was measured. During this stage, blood urea nitrogen and creatinine levels were tried to approach the reference range with intravenous fluid therapy for 10 months. As a result of studies conducted in recent years, we know that the use of stem cells can restore some of the lost kidney function. Depending on the severity of the disease and the timing of treatment, kidney values and prognosis may return to normal rapidly. Adipose tissue-derived mesenchymal-derived allogeneic stem cells were administered 10 months after the diagnosis. It was observed that the kidney values did not decrease to the reference range 96 hours after the first application. Two days later, the second stem cell application was made. During this period, fluid therapy was interrupted. Six days after the second application, the creatinine value was found to be 1.91 mg/dl. From this date, blood urea nitrogen (23.7 mg/dl) and creatinine (1.7 mg/dl) values were found to normalize in the blood values taken on the 21st day of the cat, which was followed up with fluid therapy. Three months after the second stem cell application, the third stem cell application was made. During this period, fluid therapy was continued at intervals of 2 days. Simultaneously, special diet and supplementary medical treatment were continued. With this case report, it is seen that; Successful results can be obtained when intravenous fluid therapy and stem cell applications are used simultaneously in cats with chronic renal failure.

**Keywords:** cat, chronic kidney failure, mesenchymal stem cell.

**1. GİRİŞ**

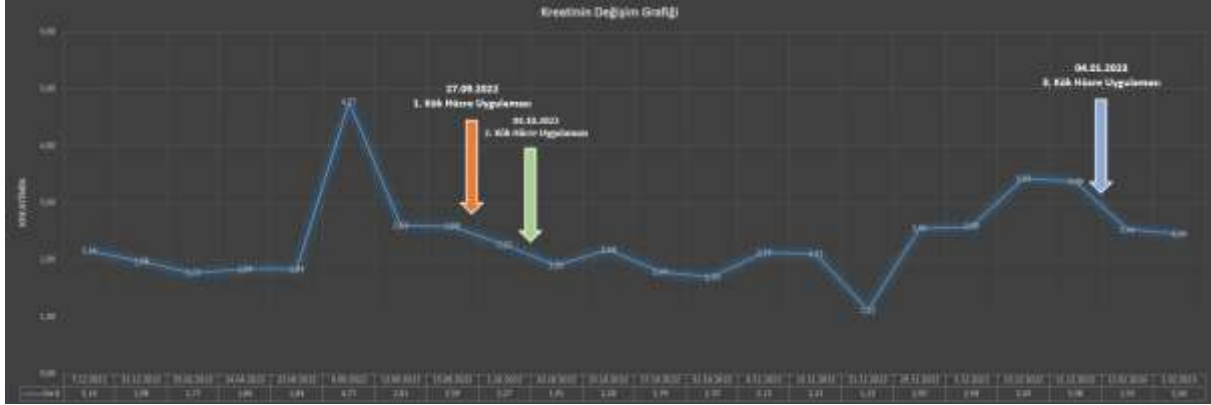
Son yıllarda yapılan çalışmalarda kök hücrelerin rejeneratif özellikleri ve hasarlı dokuyu tamir faaliyetlerine katkıları irdelenmiştir. Özellikle, mezenkimal kök hücre (MKH) olarak adlandırılan yetişkin kök hücreler, etkilenen bölgelere göç edebilmekte ve diğer kök hücrelerin büyümesini desteklemenin yanı sıra bağışıklık sistemi cevabının etkilerini hafifletebilmektedir. Bu tarz tedavi seçeneklerinin de kedilerde özellikle akut veya kronik böbrek hastalıklarında sık görüldüğünü biliyoruz (Quimby 2019).

Kök hücreler genel olarak embriyonik kök hücreler ve erişkin kök hücreler olmak üzere 2 gruba ayrılır. Yetişkin kök hücreler kemik iliği, kemik, yağ ve kas dahil ancak bunlarla sınırlı olmamak üzere birçok farklılaşmış dokudan elde edilebilir MKH multipotent özelliktedir, bu durum birkaç dokuya özelleşerek çoğalabileceği anlamına gelir (Reinders, Fibbe, and Rabelink 2010). Mezenkimal kök hücreler hemen hemen her dokudan izole edilebilir. Kedilerde kemik iliği, adipoz doku ya da ovariohisterektomi operasyonunda alınan fetal membran dokuları MKH olabilir (Iacono et al. 2012; Martin et al. 2002; Quimby et al. 2013a; Webb, Quimby, and Dow 2012).

Ratlarda kronik böbrek yetmezliği (KBY) ile ilgili çalışmalar akut böbrek yetmezliği ile karşılaştırıldığında daha az çalışma vardır (Choi et al. 2009; Kirpatovskii et al. 2006; Lee et al. 2010; Ninichuk et al. 2006; Villanueva et al. 2013; Villanueva et al. 2011). Kedilerde KBY tedavisinde MKH'lerin uygulanmasının güvenliğini ve etkinliğini değerlendiren bir dizi pilot çalışma yapılmıştır (Quimby et al. 2011; Quimby et al. 2013b; Quimby et al. 2016).

## 2. OLGU

Bu olgu sunumunda melez ırk, 12 yaşlı, dişi bir kedinin 10,5 yaşındayken Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi Küçük Hayvan Kliniğinde KBY tanısı alması ve devamındaki tedavi sürecinde kök hücre kullanılan aşamaların detayları paylaşılacaktır.



Grafik 1. Tedavi süresinde kreatinin değerinin değişim aralığı.

Tanı aşamasında kreatinin değeri 2.16 mg/dl (0.8-1.8) , kan üre nitrojeni değeri ise; 35.60 mg/dl (19.97-29.96) ölçülmüştü. Bu süreçte 10 ay süre ile genellikle gün aşırı sıklıkta intravenöz sıvı sağaltımı ile kan üre nitrojeni ve kreatinin seviyeleri referans aralığa yaklaştırılmaya çalışıldı. Durumun şiddetine ve tedavinin zamanlamasına bağlı olarak böbrek değerleri ve prognoz hızla normale dönebilmektedir.

Tanı konduktan 10 ay sonra  $10 \times 10^6$  adet adipoz doku kaynaklı mezenkimal kökenli allojenik kök hücre

TARİH	WBC	LYM	MONO	NEUT	EOS	LYM%	MONO%	NEUT%	EOS%	RBC	HGB	HCT	MCV	MCH	MCHC	RDW <sub>a</sub>	RDW%	PLT	MPV
7.12.2021	3,8	1,6	0,3	1,8	0,1	42,5	7,1	48,2	2,2	8,82	13,3	37,6	42,7	15	35,3	20,1	13,9	34	9,2
31.12.2021	5,6	1,6	0,5	3,3	0,2	29,5	8,5	59	3	9,65	13,6	39	40,4	14,2	35,2	19,3	14,5	113	10
22.06.2022	5	0,7	0,1	4	0,2	14,2	3,2	76,8	5,8	8,73	13,1	37,2	42,5	15	35,3	31,2	17,6	73	7,8
9.09.2022	14,7	1	0,3	13,3	0,1	6,9	2,6	89,7	0,8	7,99	12,6	36,3	45,4	15,7	34,7	30,1	16,6	84	7,5

Tablo 1. Tedavi sürecinin başındaki tam kan verileri

uygulaması intravenöz yolla yapıldı. Birinci uygulamadan 96 saat sonra böbrek değerlerinin referans aralığa inmediği görüldü. Bir hafta sonrayına aynı miktarda 2. kök hücre uygulaması yapıldı. Bu süre zarfında sıvı tedavisine ara verildi. İkinci uygulamadan 6

gün sonra kreatinin değerinin 1,91 mg/dl olduğu tespit edildi. Bu tarihten itibaren sıvı tedavisi ile birlikte takip edilen kedinin 21. günde alınan kan değerlerinde kan üre nitrojeni (23.7 mg/dl) ve kreatinin (1.7 mg/dl) değerlerinin normale gerilediği görüldü. İkinci kök hücre uygulamasından 3 ay sonra  $7 \times 10^6$  adet 3. kök hücre uygulaması yapıldı. Bu süreçte sıklıkla 2 gün arayla sıvı tedavisine devam edildi. Eş zamanlı olarak özel diyet ve takviye niteliğindeki medikal sağaltım da devam ettirildi.

Sınırlı bir süre yansıtıyor olsa da tam kan verileri de özellikle hematokrit takibi açısından Tablo 1'de özetlendi. Hematokritin kreatinin değerinin 5'e yaklaştığı dönemde dahi çok değişmediği görüldü.

## 3. SONUÇ

Bu olgu sunumunda KBY hastası bir kedinin subkutan kök hücre uygulamaları ve intravenöz sıvı sağaltımı ile klinik durumu ve kreatinin değerleri hakkında bilgi verildi.

Kedilerde KBY'de yapılan bir pilot çalışmada (Quimby et al. 2011), 6 kedide ultrason eşliğinde intrarenal yolla kemik iliği ya da adipoz doku kaynaklı MKH aktarımı denenmiştir. Bu kedilerden dördü KBY hastası, ikisi sağlıklı hayvanlar olup, KBY hastası kedilerin ikisinde glomerular filtrasyon oranı iyileşme göstermiş, kreatinin değerleri aktarımın 60. gününde düşme eğilimindedir. İntrarenal uygulama sonucunda herhangi bir yan etki görülmemiş olsa da anestezi süreçleri dolayısıyla parenteral yolların değerlendirilmesi önerilmektedir. Sunulan bu olguda, birinci ve ikinci nakil arasında 1 hafta, iki ve üçüncü nakil arasında ise 3 ay süre geçmektedir. Kreatinin verilerinin her kök hücre transferinin ardından düşme eğilimi gösterdiği tespit edildi (Grafik 1).

Dondurularak saklanan adipoz doku kaynaklı allojenik MKH'in intravenöz yolla uygulandığı başka bir pilot çalışmada (Quimby et al. 2013b), kullanılan hücre miktarı 3 grupta değerlendirilmiştir. Sonuçta kök hücre miktarının artırıldığı grupta yan etki insidansının fazla olduğu ve böbrek fonksiyonlarında çok kuvvetli bir düzelme olmadığı tespit edilmiş. Düşük dozda hücre kullanılan grupta fazla yan etki görülmediği fakat böbrek fonksiyonlarına etkisinin de kısıtlı olduğu belirlenmiştir. Sonuçlarını paylaştığımızda bu olguda; 1. ve 2. uygulamada on milyon adet, 3. uygulamada ise yedi milyon adet kullanıldı. Uygulamaların üçünde de dikkate değer herhangi bir yan etki ile karşılaşılması. Quimby ve ark. 'nın 2013 yılında yaptıkları bu çalışmada bir hafta arayla toplamda 3 uygulama yapılmıştır. Birinci grupta  $2 \times 10^6$ , ikinci ve üçüncü grupta ise;  $4 \times 10^6$  adet MKH kullanılmıştır. Çalışmamızda ilk iki uygulamada  $10 \times 10^6$  adet, 3. uygulamada  $7 \times 10^6$  adet hücre kullanıldı. Hücre sayısı açısından 3 uygulamada da daha fazla hücre kullanıldı fakat herhangi bir yan etki ile karşılaşılması. Tabii burada yalnızca bir olgudan bahsediyoruz. Yirmibir hayvanda yapılmış 3 fazlı bir pilot çalışma ile karşılaştırılabilecek veriler olmasa da yan etkiler konusunda fikir vermesi açısından önemli bir nokta olabilir.

İntra-arteriyel infüzyon yoluyla allojenik MKH kullanılan başka bir çalışmada (Thomson et al. 2019); International Renal Interest Society (IRIS) 3. aşama kronik böbrek hastası olan 5 kedide faz 1 klinik denemeler yapılmıştır. Floroskopi reheberliğinde oniki gün arayla 2 intraarteriyel infüzyon gerçekleştirilmiştir. İlk uygulamada ortalama  $2,4 \times 10^6$ , ikincisinde ortalama  $3,7 \times 10^6$  hücre aktarılmıştır. Uygulamalar sonrası 90 güne kadar kediler monitörize edilmiştir. İntraarteriyel infüzyon her olguda başarıyla gerçekleştirilmiş ve herhangi bir yan etki görülmemiştir. Fakat burada floroskop kullanımı için teçhizat ve tecrübe gerekli olduğu için rutinde pek fazla kullanılamayacak bir teknik gibi görülüyor.

Bu olgu sunumu ile görülüyor ki; kronik böbrek yetmezliği olan kedilerde idrar çıkışının takibiyle kedinin tolere edebileceği oranda intravenöz sıvı sağaltımı ve kök hücre uygulamaları eş zamanlı olarak kullanıldığında başarılı sonuçlar alınabilmektedir. Klinik pratiğinde rutin olarak kök hücre uygulamalarının yapılabilmesi için tabii hızlı ve ekonomik koşullar gerekiyor. Bu koşullar sağlandığı takdirde kök hücre naklinin faydalı sonuçlar doğuracağı kanaati oluşmaktadır.

#### 4. REFERANSLAR

Choi, S., M. Park, J. Kim, S. Hwang, S. Park, and Y. Lee. 2009. 'The role of mesenchymal stem cells in the functional improvement of chronic renal failure', *Stem Cells Dev*, 18: 521-9.

Iacono, Eleonora, Marco Cunto, Daniele Zambelli, Francesca Ricci, Pier Luigi Tazzari, and Barbara Merlo. 2012. 'Could fetal fluid and membranes be an alternative source for Mesenchymal Stem Cells (MSCs) in the feline species? A preliminary study', *Veterinary Research Communications*, 36: 107-18.

Kirpatovskii, V. I., A. V. Kazachenko, E. Yu Plotnikov, M. V. Marei, R. A. Musina, T. A. Kon'kova, V. V. Drozhzheva, O. N. Nadtochii, and G. T. Sukhikh. 2006. 'Functional aftereffects of intraparenchymatous injection of human fetal stem and progenitor cells to rats with chronic and acute renal failure', *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 141: 500-06.

Lee, Sul-Ra, Sang-Ho Lee, Ju-Young Moon, Ji-Yeung Park, Dongyoung Lee, Sung Jig Lim, Kyung-Hwan Jeong, Jae-Kyung Park, Tae-Won Lee, and Chun-Gyoo Ihm. 2010. 'Repeated administration of bone marrow-derived mesenchymal stem cells improved the protective effects on a remnant kidney model', *Renal Failure*, 32: 840-48.

Martin, Douglas R., Nancy R. Cox, Terri L. Hathcock, Glenn P. Niemeyer, and Henry J. Baker. 2002. 'Isolation and characterization of multipotential mesenchymal stem cells from feline bone marrow', *Experimental Hematology*, 30: 879-86.



- Ninichuk, V., O. Gross, S. Segerer, R. Hoffmann, E. Radomska, A. Buchstaller, R. Huss, N. Akis, D. Schlöndorff, and H. J. Anders. 2006. 'Multipotent mesenchymal stem cells reduce interstitial fibrosis but do not delay progression of chronic kidney disease in collagen4A3-deficient mice', *Kidney International*, 70: 121-29.
- Quimby, J. M., T. L. Webb, L. M. Habenicht, and S. W. Dow. 2013a. 'Safety and efficacy of intravenous infusion of allogeneic cryopreserved mesenchymal stem cells for treatment of chronic kidney disease in cats: results of three sequential pilot studies', *Stem Cell Res Ther*, 4: 48.
- Quimby, J. M., T. L. Webb, E. Randall, A. Marolf, A. Valdes-Martinez, and S. W. Dow. 2016. 'Assessment of intravenous adipose-derived allogeneic mesenchymal stem cells for the treatment of feline chronic kidney disease: a randomized, placebo-controlled clinical trial in eight cats', *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 18: 165-71.
- Quimby, Jessica M. 2019. 'Stem Cell Therapy', *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 49: 223-31.
- Quimby, Jessica M., Tracy L. Webb, Debra S. Gibbons, and Steven W. Dow. 2011. 'Evaluation of intrarenal mesenchymal stem cell injection for treatment of chronic kidney disease in cats: a pilot study', *Journal of Feline Medicine & Surgery*, 13: 418-26.
- Reinders, M. E., W. E. Fibbe, and T. J. Rabelink. 2010. 'Multipotent mesenchymal stromal cell therapy in renal disease and kidney transplantation', *Nephrol Dial Transplant*, 25: 17-24.
- Thomson, A. L., A. C. Berent, C. Weisse, and C. E. Langston. 2019. 'Intra-arterial renal infusion of autologous mesenchymal stem cells for treatment of chronic kidney disease in cats: Phase I clinical trial', *J Vet Intern Med*, 33: 1353-61.
- Villanueva, S., J. E. Carreño, L. Salazar, C. Vergara, R. Strodthoff, F. Fajre, C. Céspedes, P. J. Sáez, C. Irrarázabal, J. Bartolucci, F. Figueroa, and C. P. Vio. 2013. 'Human mesenchymal stem cells derived from adipose tissue reduce functional and tissue damage in a rat model of chronic renal failure', *Clin Sci (Lond)*, 125: 199-210.
- Villanueva, S., E. Ewertz, F. Carrión, A. Tapia, C. Vergara, C. Céspedes, P. J. Sáez, P. Luz, C. Irrarázabal, J. E. Carreño, F. Figueroa, and C. P. Vio. 2011. 'Mesenchymal stem cell injection ameliorates chronic renal failure in a rat model', *Clin Sci (Lond)*, 121: 489-99.
- Webb, Tracy L, Jessica M Quimby, and Steven W Dow. 2012. 'In vitro comparison of feline bone marrow-derived and adipose tissue-derived mesenchymal stem cells', *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 14: 165-68.

**GIDALARDA ELEKTRONİK BURUNUN KULLANIMI**  
**THE USE OF ELECTRONIC NOSE IN FOODS**

**Candan CANÖZER<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>*Doktora Öğrencisi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Van, Türkiye.*

<sup>1</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1100-8716>*

**Şenol KÖSE<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>*Doç. Dr., Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Van, Türkiye.*

<sup>2</sup>*ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0599-6030>*

**ÖZET**

Elektronik burun, genel olarak insan koku duyusunu ve bu duyunun insan beyni ile olan iletişimini taklit eden kimyasal sensörlerin birleşimidir. Bunun yanı sıra, insan burnunun algılayamadığı düzeylerdeki kokular üzerinde bile hassas ölçüm yapabilen bir cihazdır. Son yıllarda elektronik burunların gıda sektöründeki kullanımı giderek artmıştır. Sağlıklı ve besleyici gıdaya olan talebin artması, üretimde yoğunlaşmaya sebep olmakta, bu da üretimde gerekli olan kalite ve laboratuvar testlerinin daha hızlı yapılmasını gerektirmektedir. Gıda sektöründe özellikle üretim süreçlerini izleme, orijinallik tespiti, yapılan taşıyıcıların tespiti, mikrobiyal veya kimyasal bozulmaların tespiti ve tazelik değerlendirme gibi alanlarda elektronik burunlar kullanılabilir. Nitekim, elektronik burun kullanımıyla ilgili bilimsel çalışmaların çoğu gıda analizini konu edinmektedir. Bu derlemede, elektronik burun, elektronik burun bileşenleri, çalışma prensibi ve gıda endüstrisinde kullanım alanları ile ilgili bilimsel çalışmaların özetlenmesi amaçlanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Elektronik Burun, Kimyasal Sensör, Gıda Endüstrisi.

**ABSTRACT**

Electronic nose, generally, is a combination of chemical sensors that mimic the human sense of smell and its communication with the human brain. Additionally, it is a device that can perform sensitive measurements on odors at levels that the human nose cannot detect. In recent years, the use of electronic noses in the food industry has increased. The increasing demand for healthy and nutritious food has led to an intensification of production, which requires faster laboratory tests and quality criteria. In the food industry, electronic noses can be used for process monitoring, freshness evaluation, detection of spoilage, detection of microbial or chemical degradation, and authenticity detection. Indeed, most scientific publications about electronic nose usage have focused on food analysis. This review aims to summarize the scientific studies on electronic nose, electronic nose components, working principle, and usage areas in the food industry.

**Keywords:** Electronic nose, Chemical Sensor, Food Industry.

**1. GİRİŞ**

**1.1. Elektronik Burun**

Elektronik Burun, yapısında kimyasal sensör dizisi içeren ve insan burnunun algılayamadığı düzeylerdeki kokular üzerinde hassas ölçüm yapabilen bir cihaz olarak adlandırılmaktadır. Bu cihaz, aynı zamanda ölçüm yapılan maddede hangi kokunun ne oranda bulunduğunu ve bu kokuların hangi sınıflara ait olduğunu da algılayabilmektedir (Saraoğlu, 2008).

Bir kokunun algılanması elektronik burun olarak ifade edilen cihazlarda kimyasal sensörler ile, insan burnunda ise reseptör hücreleri ile gerçekleşir. Reseptör hücrelerinin görevi kokunun algılanmasını sağlamak iken beyin ise kokuyu tanımlamaktadır. Bu bağlamda, kokunun türüne karar veren sistem, sensörler değil yazılımsal olarak dizayn edilen yapay zekâ modelleridir. Yapay zekâ modellerinde, kokuları ayırt etmekte genel olarak regresyon, sınıflandırma ve kümeleme gibi yöntemlerden biri kullanılmaktadır. Bu yapay zeka modellerine; kokuyu ayırt edebilme yeteneği, toplanan sensör verileri ve makine öğrenmesi yöntemi kullanılarak kazandırılmaktadır. Sonuç olarak, sensörlerden elde edilen veriler ve bu verilerle bağlantılı koku sınıfları, yapay zeka modeli üzerinde yazılımsal olarak kaydedilmektedir (Montuschi ve ark., 2013).

Ölçüm yapılan madde içindeki kokuları sınıflandırmak için en uygun yapay sinir ağı modeli, öğreticili öğrenme ve Levenberg-Marquardt optimizasyon yöntemleri ile bulunmaktadır. Sonuç olarak, yeni sensör verileri geldiğinde bu YSA modeli tanımladığı kokunun türüne belli bir oranda karar vermektedir. Böylece, geliştirilen bu yapay zeka modeli Elektronik Burun olarak kullanılabilir (Beyhan ve Çetin, 2020).

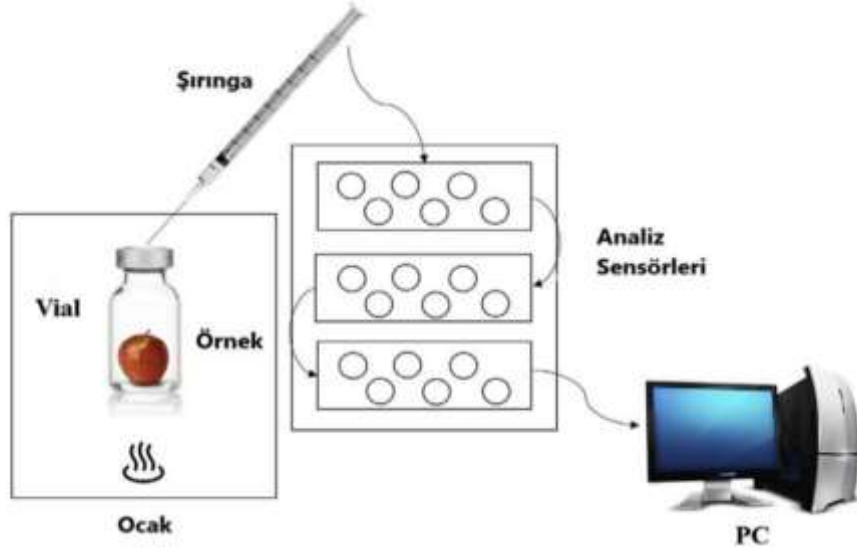
### 1.2. Elektronik Burun Çalışma Prensibi

Elektronik burun, genel olarak insan koku duyusunu ve bu duyunun insan beyni ile olan iletişimini taklit eden kimyasal sensörlerin birleşimidir. Biyolojik burunda uçucu bileşikler ile reseptör hücreleri arasındaki etkileşim sonucu kokuyu algılamamız sağlanırken, elektronik burunda ise uçucu bileşikler ile sensör dizisi arasındaki etkileşim sonucu koku analizi sağlanır. Bir sonraki aşamada, beyindeki reseptör hücreleri tarafından sağlanan sinyalin veya bir desen tanıma veri tabanından sağlanan sinyalin depolanması (öğrenme aşaması) ve daha sonra depolanan kokudan (sınıflandırma aşaması) birinin tanımlanması gerçekleşir (Song ve ark., 2013). Elektronik burun ile biyolojik burun bileşenlerinin eşleştirilmesi Tablo 1'de gösterilmiştir.

**Tablo 1.** Biyolojik Burun ile Elektronik Burun Karşılaştırması (Castro ve ark., 2003)

Biyolojik burun	Elektronik burun
Akciğer	Pompa
Mukus, Saç, Membran	Giriş örnekleme sistemi
Olfaktör hücreler	Sensörler
Olfaktör vezikül	Veri ön işleme modülü
Koku merkezi	Desen tanıma modülü
Sinir uyarıları	Elektrik sinyali

Bir Elektronik Burunda, farklı moleküllerdeki seçicilikleri üst üste gelen bir dizi özgün sensör kullanılmaktadır. Genellikle kimyasal sensörden gelen tepki, iletkenlik veya akım benzeri fiziksel parametrelerin değişimi ile hesaplanmaktadır (Ghasemi-Varnamkhasi ve ark., 2018). Bir Elektronik Burun, aroma çıkarma sistemi, sensör dizisi, kontrol ve ölçüm sistemi ve model tanıma sisteminden oluşmaktadır (Persaud, 2016). Elektronik burunun tipik yapısının temel akış şeması şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. Elektronik Burunun Bileşenleri (Di Rosa ve ark., 2017)

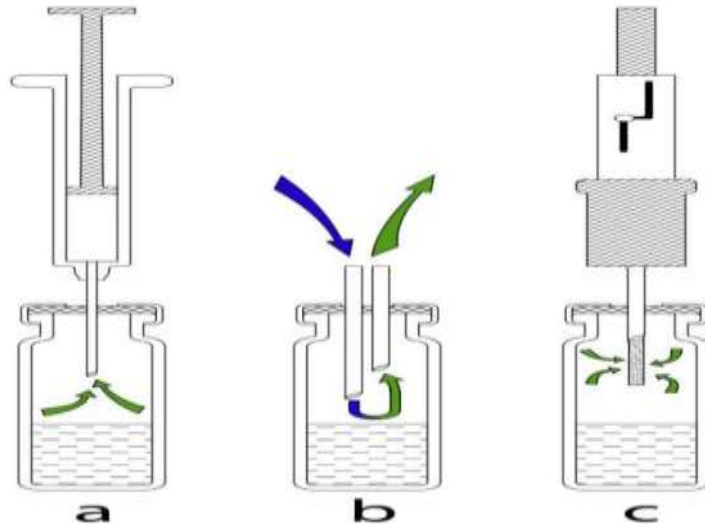
Uçucu bileşikler, örnekleme düzeneğiyle sensörler odasına iletilir. Daha sonra sensörler yardımıyla üretilen sinyaller model tanıma algoritmaları kullanılarak işlenir.

### 1.3. Elektronik Burunun Bileşenleri

Bir elektronik burun sistemi, bir dizi kimyasal sensör, sinyal toplama ünitesi ve örnek tanımlama yazılımından meydana gelir (Kızıl ve ark., 2011). Bir sensör dizisinin dizaynı için gazların tepkime bilgilerine, örüntü tanıma tasarımları için de elektronik donanım ve makine öğrenmesi bilgilerine ihtiyaç duyulur (Beyhan ve Çetin, 2020).

#### 1.3.1. Örnekleme Mekanizması

Elektronik Burun sistemlerinde en önemli aşamalardan biri ölçümü yapılacak maddeden uçucu bileşenlerin uygun bir şekilde alınmasıdır. Bunun için örnekleme çalışılacak maddenin fazına göre geliştirilmiş farklı mekanizmalar bulunmaktadır. Bunlardan en yaygın olan örnekleme mekanizmaları, statik veya dinamik boşluk modunda çalışırlar. Katı fazdaki maddeler için önceden konsantre edilerek veya mikroekstraksiyon kullanılarak örnekleme yapılabilir (Dymerski ve ark., 2011). Majchrzak ve ark.'nin örnekleme sistemlerini anlatan görseli Şekil 2'de verilmiştir.



Şekil 2. Elektronik Burun sistemlerinde kullanılan örnekleme yöntemleri: a-Statik Üst Boşluk, b-Dinamik Üst Boşluk, c-Katı Faz Mikroekstraksiyon (Majchrzak ve ark., 2018)

Statik üst boşluk modunda, ölçümler sensör çevresinde buhar akışı olmadan ve sabit konsantrasyonda buhar etkisindeki sensörlerin kararlı durum tepkimelerinde yapılır. Dinamik üst boşluk modunda ise sensörlerin buhar akışına yerleştirilmesiyle çok sayıda örneğin kısa bir zaman diliminde ölçülmesi sağlanır (Lozano ve ark., 2007). Katı faz mikroekstraksiyonu tekniği ise kompleks ve maliyetli araçların eklenmesini gerektirdiğinden, Elektronik Burunlarda en nadir kullanılan yöntemlerdendir. Ayrıca analiz süresini uzatacağından Elektronik Burunların temel amaçlarından biri olan üretimde kalite ve laboratuvar testlerini hızlandırma avantajını ortadan kaldırmaktadır (Majchrzak ve ark., 2018).

### 1.3.2. Elektronik Burunda Kullanılan Sensörler

Metal oksit yarı iletken sensörler elektronik burunlarda en çok kullanılan sensör tipidir. Bunun yanı sıra piezoelektrik sensörler, iletken polimer sensörler ve elektrokimyasal sensörler kullanılmaktadır (Majchrzak ve ark., 2018).

#### 1.3.2.1. Metal Oksit Yarı İletken Sensörler

Metal oksit yarı iletken sensörlerde substrat üzerine kaplanmış metal oksit yarı iletken film ( $\text{SnO}_2$ ,  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{ZnO}$ ,  $\text{ZrO}_2$ ) kullanılır. Metal oksit yarı iletken sensör üretiminde çoğunlukla kullanılan metal, kalay oksittir ( $\text{SnO}_2$ ). Kalay oksitin yüksek hassasiyetli ve düşük maliyetli olması araştırmalarda sık kullanılmasını sağlamıştır. Ölçüm yapılırken, uçucu moleküller, yarı iletken yüzeyde adsorbe edilir, oksijen türleri ile reaksiyona giren moleküller sensör direncinin değişmesine sebep olurlar (Di Rosa ve ark., 2017). Yüksek hassasiyete sahip olması, yüksek tekrarlanabilirlik sağlaması ve düşük maliyetli olması sebebiyle metal oksit yarı iletken sensörler en çok kullanılan sensörlerdendir (Dymerski ve ark., 2011).

#### 1.3.2.3. Piezoelektrik sensörler

Piezoelektrik kristal sensörler, bir afino elektrikkuvartz,  $\text{LiNbO}_3$  veya  $\text{LiTaO}_3$  kristalinden oluşurlar. Kuvars kristal mikrobalsı ve yüzey akustik dalgası gibi sensörler mevcut uçucu molekülleri selektif olarak adsorbe ederler. Uçucu bileşiklerin algılama membranı üzerine adsorpsiyonu, cihazın kütlesini artırır ve rezonans frekansında bir değişikliğe sebep olur (DiRosa ve ark., 2017). Boyutunun küçük olması, tepki süresinin kısa olması ve yüksek duyarlılık ve seçicilik göstermesi gibi avantajları ve düşük sinyal oranı, yüksek detaylandırma maliyeti ve düşük ölçüm tekrarlanabilirliği gibi dez avantajları mevcuttur (Majchrzak ve ark., 2018).

#### 1.3.2.2. İletken Polimer Sensörler

İletken polimer sensörler, geliştirilmiş özelliğe sahip, yüksek hassasiyetle çalışan, oda sıcaklığında kısa tepki süresi sağlayan, elektronik arayüzü basit ve taşınabilir cihazlar için uygun sensörlerdir. İletken polimerler, moleküler zincir yapısı kopolimerizasyon veya yapısal türevlerle modifiye edilebilmekte olup kimyasal veya elektrokimyasal işlemlerle sentezlenmeleri kolaydır (Ghasemi-Varnamkhashti ve ark., 2018). İletken polimerler karşılaştığı kokularla iyonik ya da kovalent bağ oluşturur. Polimer sensörlerde iletkenlik zincir boyunca elektronların transferinden etkilenerek değişir (Dymerski ve ark., 2011).

#### 1.3.2.4. Elektrokimyasal Sensörler

Hem sıvı hem de katı elektrolitli sensörleri içeren elektrokimyasal gaz sensörleri elektronik burun teknolojisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Amperometrik gaz sensörü, zehirli gazların (karbon monoksit, hidrojen sülfür, azot oksitler, kükürt dioksit) tespitinde sıklıkla kullanılan sensörlerdendir. (Dymerski ve ark., 2011).

### 1.3.3. Sinyal İşleme ve Desen Tanıma

Elektronik burunlarda veri analizi, çıkış sinyalini ön işleme, özellik çıkarma, sınıflandırma ve karar verme aşamalarında dönüştürerek yapılır. (Majchrzak ve ark., 2018). Ön işlemede, sensör dizisinin geçici tepkilerini ortalama alarak algılayıcının sapması dengelenir ve mevcut ölçümde önceki ölçümlerin etkileri azaltılır. Sensörler yardımıyla elde edilen ölçüm bilgileri kalıp çıkarma işleminde dönüştürülen işlenmemiş bir yanıttır. Özellik çıkarma aşamasını kontrol eden istatistiksel analiz yöntemleri nicel yöntemler ve desen analizi yöntemleri olarak iki gruptan oluşur. Nicel yöntemler denetlenir ve bilinen örneklerin veritabanında çalışır. Desen analizi teknikleri ise küme analizi ve ana

bileşen analizi gibi denetimsiz olabilir veya diskriminant fonksiyon analizi veya kanonik korelasyon analizi gibi denetlenebilir (Dymerski ve ark., 2011).

#### 1.4. Gıdalarda Elektronik Burun

Sağlıklı ve besleyici gıdaya olan talebin artması, üretimde yoğunlaşmaya sebep olmakta, bu da üretimde gerekli olan kalite ve laboratuvar testlerinin daha hızlı yapılmasını gerektirmektedir. Gıda üretiminde en önemli noktalardan biri ürünlerin kalite kriterlerini sağlamaktır. Son üründe kaliteyi sağlamak, ham madde ve ara ürünlerde kalite kriterlerinin korunmasına bağlıdır. Zaman tasassuru ve gıdaya olan yoğun talebin karşılanabilmesi için uzun süren laboratuvar testlerinin yapılmaması ürün kalitesi üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olabilmektedir (Majchrzak ve ark., 2018).

Son yıllarda gıdalarda yapılan tahşişler yaygınlaştığından tüketicuyu aldatmakta ve bazı durumlarda insan sağlığını tehdit etmektedir. Nitekim, gıdalarda orijinallik, mikrobiyal ve kimyasal bozulmalar ve yapılan tahşişler tüketicide endişe uyandırmaktadır (Peris ve Escuder-Gilabert, 2016).

Dolayısıyla analiz süresini kısaltacak, hassas ölçümler yapabilen, düşük maliyetli yeni gıda analiz tekniklerinin geliştirilmesi önem kazanmaktadır. Söz konusu gıda analiz tekniklerinden biri de elektronik burunlar olarak bilinen hassas sensörlere sahip cihazlardır. Bu teknik son yıllarda özellikle gıda sektöründe hızlı bir gelişim göstermiştir. Bu elektronik koku algılayıcıları, özellikle ürünün ham maddesinin belirlenmesinde ve kimyasal ve mikrobiyal bozulmaların tespitinde, yenilebilir yağların analizinde başarılı bir şekilde kullanılabilir (Majchrzak ve ark., 2018).

#### 1.5. Gıda Endüstrisinde Elektronik Burunun Kullanım Alanları

Biyolojik materyallerden yayılan uçucu organik bileşenleri inceleyerek, bu bileşenleri sınıflandıran elektronik burun sistemleri gıda endüstrisi, insan sağlığı, çevre kontrolü gibi alanlarda kullanılma imkanı bulmuştur (Kızıl ve ark., 2011).

Elektronik burun kullanımıyla ilgili bilimsel çalışmaların çoğu gıda analizini konu edinmektedir. Elektronik burunu konu edinen 12.000'den fazla yayının yaklaşık 5000 tanesi gıda endüstrisinin temel konularıyla alakalıdır. Gıda endüstrisi, elektronik burun ve benzer teknolojiler için en uygun alanlardan biridir (Loutfi ve ark., 2015).

Elektronik burunlar et teknolojisinde, depolama koşullarından kaynaklanan bozulmaların tespit edilmesi ve ürün kalitesinin değerlendirilmesinde kullanılmıştır. (Wijaya ve ark., 2017; Wijaya ve ark., 2018; Wijaya ve ark., 2019). Ayrıca gıda endüstrisinde kullanılan yağların sınıflandırılması ve kalitesinin belirlenmesinde yine elektronik burun kullanılmıştır (Majchrzak ve ark., 2018; Oates ve ark., 2018).

Et ve balık tazeliğini değerlendirmek için Mastersense adlı yeni, düşük maliyetli, taşınabilir ve basitleştirilmiş bir elektronik burun sistemi geliştirmeyi amaçlayan bir çalışma yürütülmüştür. Mastersense sistemi, sığır eti ve kümes hayvanları dilimleri ile pisi balığı ve somon filetolarını 4 °C'deki raf ömürleri boyunca, ambalajlama gününden itibaren ve son kullanma tarihinden sonra test etmek için kullanılmıştır. Aynı numuneler toplam canlı sayım için test edilmiş ve mikrobiyal sonuçlar tazelik sınıflarını tanımlamak için kullanılmıştır. Elde edilen tüm modeller, sırasıyla %83,3 ve %84,0'dan daha yüksek tahminle global duyarlılık ve özgüllük vermiştir. Sonuç olarak, K-Nearest Neighbours' modeliyle uygulanan Mastersense prototipi, et ve balık tazeliğini değerlendirmek için en uygun strateji olarak kabul edilmiştir (Grassi ve ark., 2019).

Elektronik burunların gıda endüstrisinde, gıda işleme proseslerinin izlenmesi, gıdaların stabilite testleri, gıdaların doğrulanması, gıdalarda tazeliğin değerlendirilmesi, gıdaların raf ömrünün belirlenmesi ve kontrol edilmesi gibi konularda yoğun bir uygulama alanı mevcuttur (Śliwińska ve ark., 2016). Kasnak ve Palamutoğlu (2018) 'nun çalışmalarında yer verdiği elektronik burunların gıda endüstrisinde kullanım alanlarına ilişkin tablo aşağıda verilmiştir.

**Tablo 2.** Elektronik Burunların Gıda Endüstrisindeki Kullanım Alanları (Kasnak ve Palamutoğlu, 2018)

Uygulama	Kategori	Çalışmanın hedefi	Referans
Proses İzleme	Domates	Domates dilimlerinde dehidrasyon prosesinin kontrolü	Pani et al. (2008)
	Siyah çay	Fermantasyon zamanının belirlenmesi	Bhattacharya et al. (2008)
	Şarap	Fermantasyon aşamasındaki farklılıkların belirlenmesi	Pinheiro et al. (2002)
Hile	Zeytin yağı	Zeytinyağının fındık yağı ile karıştırılma durumu tespiti	Mildner-Szkudlarz, S., & Jeleń, H. H. (2008).
	Koyun eti	Koyun kıymasına domuz eti katkısının tespiti	Tian et al. (2013)
	Süt	Süte eklenen hidrojen peroksidin tespiti	Paixão et al. (2009)
Tazelik Değerlendirme	Balık	Tazeliliğin belirlenmesi	Huang et al. (2016)
	Süt	Pastörize ve UHT sütlerdeki ransiditenin tespiti	Capone et al. (2001)
	Tavuk	Oksitlenmiş tavuk yağında flavor değişimleri	Song et al. (2013)
Orijinallik	Bal	Farklı botanik kökenli numuneler arasındaki ayırım	Escriche et al. (2012)
	Yumurta	Farklı kanatlıların yumurtalarının ayırımı	Wang et al. (2014)
Diğer	Yoğurt	Çedar peyniri ekleyerek karıştırılmış yoğurdun lezzet analizi	Li et al. (2014)
	Glutensiz ya da gluten içeren besinler	Besinlerin gluten veya gliadin seviyesine göre sınıflandırılması	Peres et al. (2011)

## 2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

### 2.1. Elektronik Burun Tarihçesi

Moncrieff 'ın 1961 yılındaki çalışmasında, ilk defa mekanik bir sistemle koku tespitinin yapılması sağlanmıştır. Moore ve ark. 'larının 1964 yılındaki çalışmasında ise yedi farklı koku üzerine stereokimyasal analizler yapılmıştır. Wilkens ve John D. 'nin 1964 yılında yaptığı çalışmada, kokuların sınıflandırılmasını sağlayan ilk elektronik sensör icat edilmiştir. 1982 yılında yapılan bir çalışmada gıda sektöründe kullanılan multisensör gaz analizörü tasarlanmıştır (Persaud ve Dodd, 1982).

Daha sonra bazı gazların veya kokuların tespiti için yaklaşık 100 çeşit prototip üretildiği bildirilmiştir. Ancak üretilen prototipler yüksek maliyetli, taşınması zor ve büyük ve cihazlar olduğundan daha hassas ölçümler yapabilen, küçük ve düşük maliyetli prototiplere ihtiyaç duyulmuştur (Beyhan ve Çetin, 2020).

Gaz kromatografi cihazları havada bulunan uçucu organik gazların analizini yapabilmektedir. İnsan vücudunda bulunan ve hastalık tanısında kullanılan ter, kan, idrar ve gaita gibi parametrelerin yanı sıra insan nefesinin de vücut sağlığı hakkında önemli bilgiler verdiği bilinmektedir. Bu bağlamda bazı hastalıkların tanısında insan nefesinde bulunan gazların incelenmesinden faydalanılabilir (Saraoğlu ve Çakmak, 2008). Buradan yola çıkarak geçmiş yıllarda, sağlıklı ve hasta insanların nefes örnekleri toplanıp incelenerek gaz profilleri oluşturulmuştur. İnsan nefesinde 3000'den fazla uçucu organik gazın bulunduğu belirtilmiştir (Dikensoy, 2013). İlk defa 1985 yılında akciğer kanseri olan hastaların nefeslerinin incelendiği bir çalışmada kanserle ilişkili gazların varlığı tespit edilmiştir (Gordon ve ark., 1985).

Elektronik Burun teknolojisinin tanı koymada en sık kullanıldığı hastalıklardan biri veremdir. Bu hastalığın nefesteki bazı gazlar ile teşhisinde kullanılmak üzere elektronik burun ve bazı gaz sensörü cihazlarının üretimi yapılmıştır (Fend, 2004; Phillips ve ark., 2010; Bruins ve ark., 2013). Üretilen bu cihazlar test gruplarında %87 oranında başarılı olmuştur (Bruins ve ark., 2013). 1989 yılında yapılan bir çalışmada köpeklerin melanomalı hastaların lezyonlarını koklama ile tanıyabilecekleri bildirilmiştir (Williams ve Pembroke, 1989). Buna dayanarak akciğer kanserinin teşhisi için birçok elektronik burun prototipi geliştirilmiştir (Di Natale ve ark., 2003; Chen ve ark., 2005; Machado ve ark., 2005; Kateb ve ark., 2009; Dragonieri ve ark., 2009; Pennazza ve ark., 2010; Barash ve ark., 2012;). 2018 'de yapılan bir çalışmada ise %86 doğruluk payına sahip mobil elektronik burun üretilmiştir (Van de Goor ve ark.,

2018). Dutta ve ark. 2005 'te yaptıkları bir çalışmada kulak-burun-boğaz hastalıklarının teşhisinde, Debley ve ark. 2012 'deki çalışmalarında astım hastalığının teşhisinde, Phillips ve ark. 2003 'teki çalışmalarında meme kanserinin teşhisinde kullanılmak üzere elektronik sensör geliştirilmiştir. Ayrıca Ping ve ark. 1997 'deki çalışmalarında Tip-1 ve Tip-2 diyabet hastalığının teşhisinde elektronik burun kullanılmıştır.

## 2.2. Türkiye'de Elektronik Burun Çalışmaları

2006 yılında yapılan bir çalışmada kimyasal gaz sensörü tasarlanmış ve uygulaması yapılmıştır. Söz konusu tez çalışmasında kuartz kristal rezonatörleri sensör dizileri yapılmış ve veriler diskriminant fonksiyon analizi ile ilişkilendirilmiştir (Efe, 2006). Saraoğlu 'nun elektronik burun teknolojisini özetleyen çalışmasında elektronik mühendisliği bölümünde kurulan koku tanıma sistemi sunulmuştur (Saraoğlu, 2008). Bunun yanı sıra nefes kokusunu yapay sinir ağı ile analiz eden bir çalışmaya daha yer verilmiştir (Saraoğlu ve Çakmak, 2008).

Elektronik burun kullanılarak *Escherichia coli* bakteri üreme süresinin incelendiği bir çalışmada *Escherichia Coli* cinsi bakterilerin petride ekildikten 24 saat sonra kısmen ve 48 saat sonra net olarak tanımlanabildiği tespit edilmiştir (Şahin ve Saraoğlu, 2010).

Ayrıca elektronik burun sistemlerinin geliştirilmesi, örnek tanımlama modellerinin oluşturulması ve uygulanması gerekli detay bilgilerin sağlanmasını amaçlayan bir çalışma yürütülmüştür (Kızıl ve ark., 2011).

Kanatlı gübresinde *Salmonella enterica* patojeninin elektronik burun kullanılarak tespit edilmesinin amaçlandığı bir çalışma yürütülmüştür. Çalışmada bu tür sistemlerin performansını değerlendirmek için bir DiagNose II elektronik burun (e-burun) sistemi test edilmiştir. Bir veri tabanı oluşturmak için 7 piliç kümesinden kanatlı gübre örnekleri toplanmış, örnekler homojenleştirilmiş ve 4 parçaya ayrılmıştır. Bir kısım olduğu gibi bırakılmış; diğer üç kısım yapay olarak *S. enterica* ile enfekte edilmiştir. Geliştirilen veri tabanı kullanılarak bir yapay sinir ağı modeli geliştirilmiş ve doğrulanmıştır. DiagNose II ve yapay sinir ağı modelinin performansını test etmek için 6 farklı etlik kümeden 16 gübre örneği toplanmış ve bu iki sistem kullanılarak test edilmiştir. Sonuç olarak, DiagNose II'nin %94 doğrulukla geliştirilen yapay sinir ağı modeline dayalı olarak gübre örneklerini enfekteli veya enfektesiz olarak doğru bir şekilde sınıflandırabildiği belirtilmiştir (Kızıl ve ark., 2015).

Diyabet hastalığında tıbbi teşhisi desteklemek amacıyla elektronik burun kullanılarak ağız kokusundan diyabet tanısı koymanın amaçlandığı bir çalışma yürütülmüştür. Çalışmada Çok Katmanlı İdrak (ÇKİ), Radyal Tabanlı Fonksiyon (RTF) ve Vektör Nicelemeli Öğrenme (VNÖ) algoritmaları sınıflandırıcı yöntemler olarak kullanılmıştır. Aynı koku verileri kullanarak bu üç algoritmanın performansları karşılaştırılmış ve sonuçlara göre her üç algoritmanın da çeşitli kokuları sınıflandırmada başarı sağladığı belirtilmiştir. Ancak, RFT yönteminin daha iyi koku tanıma özelliğine sahip olduğu bildirilmiştir (Karlık ve Cemal, 2012).

Helal gıda ürünlerinde domuz türevleri ve belirleme yöntemlerinin incelendiği bir çalışmada domuz eti ve/veya domuz yağı karışmış gıdaların hassas bir şekilde analiz edilebilmesi için elektronik burun destekli GC, kütle spektrometresi, ELISA gibi metotlar incelenmiştir (Batu, 2013).

Su ürünlerinin tazelik tespitinde elektronik burun ve yapay görme sistemleri kullanımının incelendiği bir derlemede tek bir teknik yerine modifiye teknikler kullanmanın, duyu kalitenin belirlenmesinde daha iyi sonuçlar verdiği bildirilmiştir (Yeşilsu ve Özyurt, 2013).

Farklı nesnelere yapay sinir ağları ile sınıflandırılmasını amaçlanan bir çalışmada, yapısında 8 farklı gaz sensörü bulunan düşük maliyetli bir elektronik burun kullanılmıştır. Bu elektronik burun ile 9 farklı koku (nane, limon, melekotu kökü, yumurta, çürük yumurta, gül suyu, naftalin, oje ve aseton), yapay sinir ağları kullanılarak sınıflandırılmıştır. Sonuç olarak, farklı nesnelere kokusunu içeren kimyasal veri tabanı kullanılarak, farklı kokuların sınıflandırılmasında başarı elde edilmiştir (Özsandıkçioğlu ve ark., 2015).

Başka bir çalışmada, diş hekimliğinde kök kanal tedavisinde patojen varlığının tespiti için elektronik burun kullanılmıştır (Çiçek ve Kaya, 2014).



Ülkemizde yetişen yerli ve yabancı üzüm çeşitlerinden üretilmiş ticari kırmızı şarapların aroma profillerinin elektronik burun ile belirlendiği ve kemometrik yöntemlerle sınıflandırıldığı bir çalışmada farklı bölgelere ait 21 adet ticari şarap kullanılmış olup, bu şarapların aroma profilleri zNose™ cihazı ile tespit edilmiştir. Şarapların aroma profillerine göre sınıflandırılması, temel bileşen analizi (PCA) ve kümeleme analizi (CA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PCA ve CA analiz sonuçlarına göre yakın bölgelerden hasat edilen ve aynı üzüm çeşidinden yapılan şarapların aroma profillerinin benzer olduğu belirtilmiştir (Korel ve ark., 2014).

Meyve kokularının tanımlanması ve sınıflandırılması için düşük maliyetli bir elektronik burun geliştirilmesinin amaçlandığı bir çalışmada yapay öğrenme metotlarından, yapay sinir ağları ve K-En Yakın Komşuluk Algoritması tasarlanan elektronik burun sisteminde, koku tanımlayıcı olarak kullanılmıştır. Sensörlerden edinilen bilgiler kullanılarak elektronik burun için yeni bir özellik çıkarım yöntemi önerilmiştir. Sonuç olarak, önerilen yöntemin limon, şeftali ve elma meyvesinin kokusunu tanıyabildiğini kanıtlamıştır (Özalp ve Uçar, 2016).

Altı farklı demlenmiş çayın sınıflandırılması için farklı sensörlerden oluşan düşük maliyetli bir elektronik burun devresinin kullanıldığı bir çalışmada, siyah çayların kalitesinin fermantasyon kokusundan elektronik burun ile tespit edilmesi amaçlanmıştır. Demlenen çayların kokusu, içinde sekiz sensör içeren elektronik bir burun devresi ile elektrik sinyaline dönüştürülmüş ve bu sinyaller normalizasyon, özellik çıkarma, boyut küçültme ve sınıflandırma algoritmalarından yararlanılarak sınıflandırılmıştır. Sınıflandırma için doğrusal diskriminant analizi, destek vektör makineleri ve karar ağaçları algoritmalarından yararlanılmıştır. Sınıflandırma başarısını tespit etmek için 10 kat çapraz doğrulama yöntemi uygulanmıştır. Sonuç olarak, en yüksek sınıflandırma başarısı %70,9 olarak lineer diskriminant analiz algoritması ile elde edilmiştir. (Kablan ve ark., 2018).

Kültür Çipura (*Sparus aurata*) ve Levrek (*Dicentrarchus labrax*) balıkları, soğuk şartlarda depolanıp elektronik burun ve bilgisayarlı resim analizi kullanılarak depolama periyotlarında incelenmiştir. Çalışmada, ayrıca diğer kalite kontrol analizleri (toplam canlı ve psikrofil bakteri sayımı, toplam uçucu bazik azot, tiyobarbutirik asit reaktif madde değeri, trimetilamin, duyu analizi, doku profil analizi) gerçekleştirilmiştir. Bilgisayarlı resim analizi depolama esnasında meydana gelen renk farklılaşmalarını CIELAB renk uzayına göre belirlemiştir. Elektronik burun, temel bileşenler analizi ile depolama periyotlarına ait koku farklılaşmasını tespit etmiştir (Erdem ve Çaklı, 2018).

Kernel Extreme Learning Machines (KELM) kullanılarak meyve kokularının tanınması ve algılanması için verimli android elektronik burun tasarımı konulu bir çalışmada KELM 'ler kullanılarak yeni bir android elektronik burun yapısı sunulmuştur. Koku tanıma için etkili bir tanıma yöntemi olarak KELM sınıflandırıcısı geliştirilmiştir. Deneysel sonuçlar KELM sisteminin meyve kokularını tanımak için daha yüksek test tanıma oranları ve daha düşük eğitim ve test süreleri açısından çalışmada kullanılan diğer sistemlerden çok daha üstün olduğunu göstermektedir (Uçar ve Özalp, 2017).

Gıda bileşenlerinin orijin tespiti analizlerinde kullanılan yöntemleri konu alan bir çalışmada gıdalarda helal ürünlerin kökenini doğrulamak ve gıda maddelerinde izin verilmeyen bileşenleri tanımlamak için kullanılan birçok yöntemden biri olan elektronik burun kullanımından söz edilmiştir (Ermış ve Salleh, 2020).

Bir diğer güncel çalışmada, elektronik burun metal oksit yarı iletken sensörlerin gıda analizlerinde kullanımı konusu irdelenmiştir. Söz konusu derlemede, elektronik burun metal oksit yarı iletken sensörleri ve gıda analizlerinde bu sensörlerin yardımıyla gerçekleştirilen bilimsel çalışmaların özetlenmesi amaçlanmıştır (İncegül ve ark., 2022).

Son yirmi yılda, materyallerdeki, sensörlerdeki ve makine öğrenimi teknolojilerindeki gelişmeler, elektronik burun ile ilgili araştırma konularının çeşitli uygulamalarla hızla genişlemesine yol açmıştır. Gıda ve içecek endüstrisi, tarım ve ormancılık, tıp ve sağlık hizmetleri, iç ve dış mekan izleme, askeri ve sivil güvenlik sistemleri, elektronik burunların hızlılığından, kararlılığından, taşınabilirliğinden ve kompaktlığından büyük avantaj sağlayan alanların başında gelmektedir. Elektronik burun teknolojisi sayısız fayda sağlasa da, pratikte elektronik burunları kullanmak için hem donanım hem de yazılım bileşenlerinde daha fazla geliştirme gereklidir (Karakaya ve ark., 2020).

### 3. SONUÇ

Uzun yıllar önce keşfedilen elektronik burunlar makine öğrenmesi ve yapay zekâ teknolojisinin sunduğu imkanlar sayesinde farklı alanlarda gelişimini sürdürmektedir. Gıdalarda kaliteyi arttırmak, hastalık teşhisini hızlandırmak insan sağlığının korunması açısından önem arz ettiğinden yeni elektronik burun sistemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu konuda tıp, kimya, elektornik ve gıda alanlarının ortak çalışmaları mümkündür. Bunun yanı sıra, farklı sensörlerin nanoteknoloji sayesinde birleştirilmesi ile daha hızlı, hassas ölçümler yapan çok fonksiyonlu elektronik burunlar üretilebilir.

Gıda üretiminde her aşamanın kontrol edilme gereksinimi zaman, nitelikli insan gücü ve maliyet gerektirmektedir. Bu dezavantajları ortadan kaldırmak ve güvenli gıda talebini karşılayabilmek adına teknolojiden yararlanılmaktadır. Elektronik burun gibi teknolojik cihazlar gıda endüstrisinde bu olanağı sunmaktadır. Gıda sektöründe özellikle üretim süreçlerini izleme, orijinallik tespiti, yapılan taşışşlerin tespiti, mikrobiyal veya kimyasal bozulmaların tespiti ve tazelik değerlendirme gibi alanlarda elektronik burunlar kullanılabilir. Elektronik burunlar, geleneksel analizlere göre, doğruluk, hız, verimlilik ve düşük maliyet gibi çeşitli avantajlar sağlamaktadır. Bu tür teknolojilerden ileriki zamanlarda daha kompleks gıda üretim hatlarında süreci kontrol etmede yararlanılabilir. Ülkemizde de bu teknolojinin gelişimi ve kullanımının yaygınlaştırılması için bilimsel çalışmalar yapılmaya devam edilmelidir.

### 4. KAYNAKLAR

Barash, O., Peled, N., Tisch, U., Bunn Jr, P. A., Hirsch, F. R., Haick, H., 2012. Classification of lung cancer histology by gold nanoparticle sensors. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 8(5): 580-589.

Batu, A., 2013. Helal Gıda Ürünlerinde Domuz Türevleri ve Belirleme Yöntemleri. *Electronic Journal of Food Technologies*, 8(3): 22-33.

Beyhan, S., Çetin, M., 2020. Elektronik Burun Tasarımı ve Literatür Araştırması.

Bruins, M., Rahim, Z., Bos, A., van de Sande, W. W., Endtz, H. P., van Belkum, A., 2013. Diagnosis of active tuberculosis by e-nose analysis of exhaled air. *Tuberculosis*, 93(2): 232-238.

Castro, R., Mandal, M. K., Ajemba, P., Istihad, M. A., 2003. An electronic nose for multimedia applications. *IEEE Transactions on Consumer Electronics*, 49(4): 1431-1437.

Chen, X., Cao, M., Li, Y., Hu, W., Wang, P., Ying, K., Pan, H., 2005. A study of an electronic nose for detection of lung cancer based on a virtual SAW gas sensors array and imaging recognition method. *Measurement Science and Technology*, 16(8): 1535.

Çiçek, E., Kaya, B. Ü., 2014. Kök Kanal Patojenlerinin Tespitinde Kullanılan Tamı Yöntemleri. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 24(8): 74-81.

Debley, J. S., Cochrane, E. S., Redding, G. J., Carter, E. R., 2012. Lung function and biomarkers of airway inflammation during and after hospitalization for acute exacerbations of childhood asthma associated with viral respiratory symptoms. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 109(2): 114-120.

Di Natale, C., Macagnano, A., Martinelli, E., Paolesse, R., D'Arcangelo, G., Roscioni, C., D'Amico, A., 2003. Lung cancer identification by the analysis of breath by means of an array of non-selective gas sensors. *Biosensors and Bioelectronics*, 18(10): 1209-1218.

Di Rosa, A. R., Leone, F., Cheli, F., Chiofalo, V., 2017. Fusion of electronic nose, electronic tongue and computer vision for animal source food authentication and quality assessment—A review. *Journal of Food Engineering*, 210: 62-75.

Dikensoy, Ö., 2013. Modern Tıpta Eskiye Dönüş: Elektronik Burun/Back To The Old Fashion In Medicine. *Plevra Bülteni* 7.1: 1.

Dragonieri, S., Annema, J. T., Schot, R., van der Schee, M. P., Spanevello, A., Carratú, P., Sterk, P. J., 2009. An electronic nose in the discrimination of patients with non-small cell lung cancer and COPD. *Lung cancer*, 64(2): 166-170.

- Dutta, R., Morgan, D., Baker, N., Gardner J. W., Hines, E. L., 2005. Identification of Staphylococcus Aureus Infections in Hospital Environment: Electronic Nose Based Approach. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 109(2): 355-362.
- Dymerski, T. M., Chmiel, T. M., Wardencki, W., 2011. Invited Review Article: An odor-sensing system—powerful technique for foodstuff studies. *Review of Scientific Instruments*, 82(11), 111101.
- Efe, A. A. 2006. Elektronik Burun Teknolojisi ve Örnek Uygulaması. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Erdem, Ö. A., Çaklı, Ş., 2018. Soğuk Muhafaza Şartlarında Depolanan Kültür Çipura (*Sparus aurata*) ve Levrek (*Dicentrarchus labrax*) Balıklarında Elektronik Burun ve Bilgisayarlı Resim Analizi Kullanılarak Kalite Takibi. *Journal of Adnan Menderes University, Agricultural Faculty*, 15(2).
- Ermış, E., Salleh, H. M., 2020. Gıda bileşenlerinin orijin tespiti analizlerinde kullanılan yöntemler. *Helal ve Etik Araştırmalar Dergisi*, 2(1): 50-63.
- Fend, R., 2004. Development of medical point-of-care applications for renal medicine and tuberculosis based on electronic nose technology. Ph.D. Thesis, Cranfield University, Silsoe, 2004.
- Ghasemi-Varnamkhasi, M., Apetrei, C., Lozano, J., Anyogu, A., 2018. Potential use of electronic noses, electronic tongues and biosensors as multisensor systems for spoilage examination in foods. *Trends in Food Science & Technology*.
- Gordon, S. M., Szidon, J. P., Krotoszynski, B. K., Gibbons, R. D., O'Neill, H. J., 1985. Volatile organic compounds in exhaled air from patients with lung cancer. *Clinical chemistry*, 31(8): 1278-1282.
- Grassi, S., Benedetti, S., Opizzio, M., di Nardo, E., Buratti, S., 2019. Meat and fish freshness assessment by a portable and simplified electronic nose system (Mastersense). *Sensors*, 19(14): 3225.
- İncegöl, Y., Özkan, G., İncegöl, A.C., Taşdelen, K. 2022. Elektronik burun metal oksit yarı iletken sensörlerin gıda analizlerinde kullanımı. *Akademik Gıda*, 20 (4): 454-473
- Kablan, Y., Atasoy, A., Özsandıkcioglu, Ü., 2018. E-burunlu farklı siyah çayların sınıflandırılması. 26. Sinyal İşleme ve İletişim Uygulamaları Konferansı (SIU) 1-4. IEEE.
- Karakaya, D., Ulucan, O., Türkan, M., 2020. Electronic nose and its applications: a survey. *Journal of Automation and Computing*, 17 (2): 179-209.
- Karlık, B., Cemel, S. S., 2012. Yapay Sinir Ağları ile Ağız Kokusundan Diyabet Tanısı/Diagnosing Diabetes from Breath Odor Using Artificial Neural Networks. *Türkiye Klinikleri. Tıp Bilimleri Dergisi*, 32(2): 331.
- Kasnak, C., Palamutoğlu, R., 2018. **Mühendislik ve Mimarlık Çalışmaları, Gıda Endüstrisinde Elektronik Burun Kullanımı**. Çizgi Kitabevi Yayınları., İstanbul. 74-80.
- Kateb, B., Ryan, M. A., Homer, M. L., Lara, L. M., Yin, Y., Higa, K., Chen, M. Y., 2009. Sniffing out cancer using the JPL electronic nose: A pilot study of a novel approach to detection and differentiation of brain cancer. *NeuroImage*, 47, T5-T9.
- Kızıl, Ü., Genç, L., Saçan, M., 2011. Elektronik burun sistemlerinin tasarım ilkeleri. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 25(1), 109-118.
- Kızıl, Ü., Genc, L., Genc, T. T., Rahman, S., Khaitza, M. L., 2015. E-nose identification of Salmonella enterica in poultry manure. *British poultry science*, 56(2): 149-156.
- Korel, F., Yaman, Ü. R., Yücel, U., 2014. Farklı Bölgelere Ait Ticari Kırmızı Şarapların Elektronik Burun ile Aroma Profillerine Göre Sınıflandırılması. *Akademik Gıda*, 12(2): 41-45.
- Loutfi, A., Coradeschi, S., Mani, G. K., Shankar, P., Rayappan, J. B. B., 2015. Electronic noses for food quality: A review. *Journal of Food Engineering*, 144, 103-111.
- Lozano, J., Santos, J.P., Gutiérrez, J., Horrillo, M.C., 2007. Comparative study of sampling systems combined with gas sensors for wine discrimination. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 126(2), pp.616-623.

- Machado, R. F., Laskowski, D., Deffenderfer, O., Burch, T., Zheng, S., Mazzone, P. J., Erzurum, S. C., 2005. Detection of lung cancer by sensor array analyses of exhaled breath. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 171(11): 1286-1291.
- Majchrzak, T., Wojnowski, W., Dymerski, T., Jacek G., Jacek N., 2018. Electronic noses in classification and quality control of edible oils: A review. *Food Chemistry* 246, 192–201.
- Moncrieff, Robert W., 1961. An instrument for measuring and classifying odors. *Journal of applied physiology* 16.4: 742-749.
- Montuschi, P., Mores, N., Trové, A., Mondino, C., Barnes, P. J., 2013. The electronic nose in respiratory medicine. *Respiration*. 85 (1): 72-84.
- Moore, John E., James W. Johnston., Martin Rubin., 1964. The stereochemical theory of odor. *Scientific American* 210.2: 42-49
- Oates, M. J., Fox, P., Sanchez-Rodriguez, L., Carbonell-Barrachina, Á. A., Ruiz-Canales, A., 2018. DFT based classification of olive oil type using a sinusoidally heated, low cost electronic nose. *Computers and Electronics in Agriculture*, 155: 348-358.
- Özalp, R., Uçar, A., 2016. Meyve kokularının algılanması ve sınıflandırılması için düşük maliyetli elektronik burun tasarımı.
- Özsandıkçioğlu, Ü., Atasoy, A., Güney, S., 2015. Classification of different objects with Artificial Neural Networks using electronic nose. In *2015 23rd Signal Processing and Communications Applications Conference (SIU)* 815-818. IEEE.
- Pennazza, G., Santonico, M., Martinelli, E., Roscioni, C., Galluccio, G., Di Natale, C., 2010. An investigation on electronic nose diagnosis of lung cancer. *Lung cancer*, 68(2): 170-176.
- Peris, M., Escuder-Gilabert, L., 2016. Electronic noses and tongues to assess food authenticity and adulteration. *Trends in Food Science & Technology*, 58, 40-54.
- Persaud, K. C., Dodd, G., 1982. Analysis of discrimination mechanisms in the mammalian olfactory system using a model nose. *Nature*. 299:352-5.
- Persaud, Krishna., 2016. Las narices electrónicas y lenguas en la industria alimentaria. *Electronic Noses and Tongues in Food Science*. Elsevier Inc.
- Phillips, M., Basa-Dalay, V., Bothamley, G., Cataneo, R. N., Lam, P. K., Natividad, M. P. R., Wai, J., 2010. Breath biomarkers of active pulmonary tuberculosis. *Tuberculosis*, 90(2): 145-151.
- Phillips, M., Cataneo, R. N., Ditkoff, B. A., Fisher, P., Greenberg, J., Gunawardena, R., Wong, C., 2003. Volatile markers of breast cancer in the breath. *The breast journal*, 9(3): 184-191.
- Ping, W., Yi, T., Haibao, X., Farong, S., 1997. A novel method for diabetes diagnosis based on electronic nose. *Biosensors and bioelectronics*, 12(9-10): 1031-1036.
- Saraoğlu, H. M., 2008. Elektronik Burun Teknolojisi ve Uygulama Alanları. Akademik Bilişim.
- Saraoğlu, H. M., Çakmak, N., 2008. Nefes Kokusundan Hastalık Tanısı için Nefes Neminin QCM Sensörlere Etkisinin Yapay Sinir Ağı ile İncelenmesi. *Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale*, 30.
- Śliwińska, M., Wiśniewska, P., Dymerski, T., Wardencki, W., Namieśnik, J., 2016. Advances in electronic noses and tongues for food authenticity testing. In *Advances in Food Authenticity Testing* (pp. 201-225).
- Song, S., Yuan, L., Zhang, X., Hayat, K., Chen, H., Liu, F., ... ve Niu, Y., 2013. Rapid measuring and modelling flavour quality changes of oxidised chicken fat by electronic nose profiles through the partial least squares regression analysis. *Food chemistry*, 141(4): 4278-4288.
- Şahin, M. E., Saraoğlu, H. M., 2010. Investigation of Escherichia coli bacteria growth process using electronic nose. In *2010 15th National Biomedical Engineering Meeting* 1-4. IEEE.

- Uçar, A., Özalp, R., 2017. Kernel Extreme Learning Machines kullanılarak meyve kokularının tanınması ve algılanması için verimli android elektronik burun tasarımı. *Kemometri ve Akıllı Laboratuvar Sistemleri*, 166: 69-80.
- Van de Goor, R., van Hooren, M., Dingemans, A. M., Kremer, B., Kross, K., 2018. Training and validating a portable electronic nose for lung cancer screening. *Journal of Thoracic Oncology*, 13(5): 676-681.
- Wijaya, D. R., Sarno, R., Zulaika, E., 2018. Electronic nose dataset for beef quality monitoring in uncontrolled ambient conditions. *Data in brief*, 21: 2414-2420.
- Wijaya, D. R., Sarno, R., Zulaika, E., 2019. Noise filtering framework for electronic nose signals: An application for beef quality monitoring. *Computers and Electronics in Agriculture*, 157: 305-321.
- Wijaya, D. R., Sarno, R., Zulaika, E., Sabila, S. I., 2017. Development of mobile electronic nose for beef quality monitoring. *Procedia Computer Science*, 124: 728-735.
- Wilkens, Walter F., John D. Hartman., 1964. An Electronic Analog for the Olfactory Processes. *Journal of Food Science* 29.3: 372-378.
- Williams, H., Pembroke, A., 1989. Sniffer dogs in the melanoma clinic *Lancet*. 1:734.
- Yeşilsu, A. F., Özyurt, G., 2013. Su Ürünlerinin Tazeliğinin Değerlendirilmesinde Elektronik Burun ve Yapay Görme Sistemlerinin Kullanımı. *Aquaculture Studies*, 2013(3).

**TAZE DOĞRANMIŞ İSPANAĞIN BESİN DEĞERLERİ ÜZERİNE FARKLI  
AMBALAJLAMA TEKNOLOJİLERİNİN ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**  
**DETERMINATION OF THE EFFECTS OF DIFFERENT PACKAGING TECHNOLOGIES  
ON THE NUTRITIONAL VALUES OF FRESH-CUT SPINACH**

**Inna CHISACOVA<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir, Türkiye

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6746-8308>

**Aysima YEDİLER<sup>2</sup>**

<sup>2</sup> Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir, Türkiye

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9595-4602>

**Özlem KIZILIRMAK ESMER<sup>3</sup>**

<sup>3</sup> Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir, Türkiye

<sup>3</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4652-0514>

**ÖZET**

Taze doğranmış meyve ve sebzeler; yıkandıktan sonra soyma, doğrama, dilimleme, rendeleme gibi mekanik işlemlerden geçirilip ambalajlanarak tüketime hazır hale getirilen, kullanımdan önce ek bir işleme gerek olmayan ürünlerdir. Bu tür ürünlere, kullanım kolaylığı sağlaması, pratik olması gibi nedenlerle gerek tüketici gerekse yemek firmaları ve restoranlar tarafından giderek artan bir talep olduğu görülmektedir. Ancak taze doğranmış ürünler, artan yüzey alanları nedeniyle bozulma reaksiyonlarına karşı bütün halde olan ürünlere kıyasla daha duyarlıdır. Ispanak da, solunum hızı yüksek ve kolay bozulabilen bir sebze olup, antioksidan aktivitesi, fenolik bileşik miktarı, C vitamini açısından zengin bir sebzedir.

Bu çalışma 2 aşamadan oluşmaktadır. Çalışmanın 1. aşamasında, taze doğranmış ıspanak için pasif modifiye atmosfer (PM) ve aktif modifiye atmosfer (AM) uygulamaları yapılarak, taze doğranmış ıspanağın modifiye atmosferde ambalajlanmasında en uygun olan ambalaj malzemeleri belirlenmiştir. Bu amaçla taze doğranmış ıspanaklar, oksijen geçirgenlik hızları farklı 8 adet polimerik ambalaj malzemesi ile ambalajlanmış, +4°C ve %90 bağıl nem koşullarında depolanmış ve tepe boşluğu gaz konsantrasyonları birer günlük periyotlarla 15 gün boyunca ölçülmüştür. En uygun ambalaj malzemesi, PM uygulaması için mikro perfore (MP) ambalaj filmi, AM uygulaması için bariyer film (BF) olarak belirlenmiş ve örnekler bu ambalaj malzemeleriyle ambalajlanarak 12 gün süreyle depolanmıştır. Ayrıca etilen gazının taze doğranmış ıspanak üzerindeki etkisini incelemek amacıyla etilen tutucu poşetler kullanılarak PM ve AM uygulamalarında sırasıyla PM+ET ve AM+ET olmak üzere aktif ambalajlama teknolojisi uygulanmıştır. Yapılan 4 farklı ambalaj uygulamasının taze doğranmış ıspanağın toplam klorofil miktarı, askorbik asit miktarı, toplam antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde miktarı üzerindeki etkisi incelenmiştir.

12 günlük depolama süresi sonunda, 0.günde 323,04 µg/g toplam klorofil miktarının; PM, AM, PM+ET, AM+ET için sırayla 35,16 µg/g, 128,91 µg/g, 45,47 µg/g ve 129,7 µg/g'a düştüğü belirlenmiştir. Askorbik asit miktarındaki değişimi incelendiğinde ise 56,6 mg/100g olan başlangıç askorbik asit miktarında depolama süresi boyunca önemli azalmalar olduğu ve depolama süresinin sonunda PM için 0,24 mg/100g'a, AM için 0,53 mg/100g, PM+ET için 0,32 mg/100g ve AM+ET için 0,99 mg/100g'a düştüğü belirlenmiştir. Toplam antioksidan aktivite miktarı ise %21,67 başlangıç değerinden, PM'da %1,61, AM'da %2,22, PM+ET'de %2,0'ye ve AM+ET'de %2,62'ye düşmüştür. Toplam fenolik madde miktarının ise, 4,41 mg GAE/kg değerinden, depolama süresinin sonunda PM'de 0,02 mg, AM'de 0,09 mg, PM+ET'de 0,05 mg ve AM+ET'de 0,13 mg GAE/kg değerine düştüğü belirlenmiştir.

Elde edilen bu sonuçlar, taze doğranmış ıspanağın besin değerlerinde 12 günlük depolama süresince önemli azalmalar olduğunu ve besin değerlerinin korunması açısından taze doğranmış ıspanağın modifiye atmosferde ambalajlamasında aktif modifikasyon yönteminin pasif modifikasyon yöntemine göre daha etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca etilen tutucu kullanımı da her iki modifiye atmosfer uygulamasında etilen tutucu konulmayan örneklere göre besin değerlerinin hafif düzeyde de olsa daha iyi muhafaza edilebileceğini göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Taze doğranmış ıspanak, modifiye atmosferde ambalajlama, pasif modifikasyon, aktif modifikasyon, etilen tutucu, aktif ambalajlama

## ABSTRACT

Fresh cut fruits and vegetables are packaged products that are ready-to-eat after washing and mechanical processes such as cutting, peeling, slicing, grating and do not require any additional processing before the use. Increasing demand is observed for these products by consumers, restaurants, catering firm for many reasons such as easy to use and practicality. But, fresh cut products are more susceptible to spoilage reactions than whole product because of increasing of surface area. Spinach is also a vegetable that has high respiratory rate, easily perishable and rich in antioxidant activity, amount of phenolic compound and vitamin C.

This study consist of 2 stage. In the first stage of this study, passive modified atmosphere (PM) and active modified atmosphere (AM) applications were applied for fresh-cut spinach and the most suitable packaging materials were determined for packaging in modified atmosphere. To that end, fresh-cut spinach was packaged with 8 polymeric packaging materials with different oxygen permeability ratio, stored at +4°C and 90% relative humidity, and headspace gas concentrations were measured in one-day periods for 15 days.

The most suitable packaging material was determined as micro perforated (MP) packaging film for PM application and barrier film (BF) for AM application, and the samples were packaged with these packaging materials and stored for 12 days. Also, in order to investigate the effect of ethylene gas on fresh-cut spinach, active packaging technology was applied in PM and AM applications by using ethylene absorber bags and these are called as PM+ET and AM+ET respectively. The effects of 4 different packaging applications on the total amount of chlorophyll, ascorbic acid, total antioxidant activity and total phenolic substance content of fresh-cut spinach were investigated.

End of the 12-day storage period, 323.04 µg/g total chlorophyll amount is (on day 0); determined that it decrease to 35.16 µg/g, 128.91 µg/g, 45.47 µg/g and 129.7 µg/g for PM, AM, PM+ET, AM+ET, respectively. When the examine of change in the amount of ascorbic acid during the storage period observed that there were significant decreases in the initial amount of ascorbic acid, which was 56.6 mg/100g. It decreased to 0.24 mg/100g in PM, 0.53 mg/100g in AM, 0.32 mg/100g in PM+ET and 0.99 mg/100g in AM+ET. The total antioxidant activity amount decreased from the initial value of 21.67% to 1.61% in PM, 2.22% in AM, 2.0% in PM+ET and 2.62% in AM+ET. The total amount of phenolic substance was determined that decreased from 4.41 mg GAE/kg, to 0.02 mg GAE/kg in PM, 0.09 mg GAE/kg in AM, 0.05 mg GAE/kg in PM+ET and 0.13 mg GAE/kg in AM+ET.

These results show that there is a significant decrease in the nutritional values of fresh-cut spinach during 12 days of storage and the active modification method is more effective than the passive modification method in the modified atmosphere packaging of fresh-cut spinach for protecting nutritional value of this product. Besides, the use of ethylene absorbent showed that the nutritional values are preserved in both modified atmosphere applications compared to the samples without ethylene absorbent.

**Keywords:** Fresh-cut spinach, modified atmosphere packaging, passive modification, active modification, ethylene absorber, active packaging

## GİRİŞ

Tarım, Türkiye için önemli bir geçim kaynağıdır. Çalışan kadın nüfusundaki artış ve tüketim alışkanlıklarında meydana gelen değişimler gibi sebeplerden dolayı minimum işlem görmüş gıdalara talebin arttığı gözlemlenmektedir. Özellikle ayıklama, doğrama gibi işlemlerden geçirilerek satışı sunulan meyve ve sebzelere, kullanım kolaylığı açısından hem tüketiciler hem de yemek firmaları ve restoranlar tarafından daha fazla talep olmaktadır.

Taze doğranmış meyve ve sebzeler; kullanılmadan önce ek bir işleme gerek olmayan ve yıkandıktan sonra soyma, doğrama, dilimleme, rendeleme gibi mekanik işlemlerden geçirilip uygun koşullarda ambalajlanarak tüketime hazır hale getirilen ürünlerdir (Ohlsson, 1994; Odumeru 1997; Corbo ve ark., 2006; Martin-Diana ve ark., 2006). Taze halde doğranmış olan meyve ve sebzeler artan yüzey alanından dolayı bütün haldeki meyve ve sebzelere göre bozulma reaksiyonlarına karşı daha duyarlıdır. Özellikle etilen üretimi ve solunum hızının artması gibi etkenler ürünün dayanıklılığını azaltmakta ve raf ömrünü kısaltmaktadır. Bu nedenle bu tür ürünleri farklı yöntemler uygulayarak muhafaza etmek oldukça önemlidir.

Taze meyve ve sebzeler, hasattan sonra da solunumlarını sürdürmektedir ve dokuda yumuşama, yüksek fizyolojik aktivite, mikrobiyal bozulmaya karşı aşırı hassasiyet gibi bozulma reaksiyonları artan yüzey alanı nedeniyle bu tür ürünler de ürünün dayanıklılığını azaltmakta ve bileşiminde bulunan besin öğelerinin miktarında daha fazla azalmaya neden olmaktadır. Bu nedenle bu tür taze ürünlerde özellikle de ön işlemlerden geçirilmiş ürünlerde doku hasarı nedeniyle de bozulma reaksiyonlarına karşı artan hassasiyeti azaltmaya yönelik olarak önlemlerin alınması gerekmektedir. Bu amaçla uygulanabilecek olan önemli kontrol yöntemlerinden birisi ambalajlama teknolojisidir.

Solunum yapan gıdaların, ambalaj içerisinde düşük O<sub>2</sub> ve yüksek CO<sub>2</sub> konsantrasyonunun etkin olduğu atmosfer koşullarında saklanmasıyla solunum hızı ve etilen üretimi yavaşlamakta ve olgunlaşma gecikmekte, gıdanın bileşimindeki asit ve şekerlerin tüketimi sınırlanmakta, solunuma bağlı olarak gelişen nem ve ısı oluşumu azalmakta, klorofil yıkımı, askorbik asitin bozunması ve enzimatik esmerleşme reaksiyonları gibi fizyolojik değişimler yavaşlamaktadır (Kader ve ark., 1989; Oms-Oliu ve ark., 2008; Üçüncü, 2007). Bu bağlamda ambalaj içerisindeki atmosferin modifikasyonu ile üründe gerçekleşen kalite ve besin öğelerinin değişimleri geciktirilip ürünün raf ömrü uzatılabilir. Bu amaçla uygulanabilecek teknolojiler; modifiye atmosferde ambalajlama teknolojisi ya da aktif ambalajlama teknolojisi.

Modifiye atmosferde ambalajlama teknolojisi, ambalaj atmosferinin gıdanın raf ömrünü uzatacak ve kalite özelliklerini uzun süre muhafaza edecek şekilde optimum bir atmosfer sağlamak üzere değiştirilmesidir. MAA tekniğinde ortam atmosferinin modifikasyonu “pasif” ve “aktif” olarak iki şekilde gerçekleşir. Pasif modifikasyon (PM) meyve ve sebze gibi solunum yapan ürünlerde, aktif modifikasyon ise her türlü gıdada uygulanabilmektedir (Kader ve Watkins, 2000; Üçüncü, 2007).

Pasif modifikasyonda ortam modifikasyonu, ambalaj içeresine herhangi bir gaz karışımı verilmeden, ambalajın gaz kompozisyonuna dışarıdan herhangi bir müdahale yapılmadan sağlanmaktadır. PM uygulamasında ambalaj içerisindeki gaz konsantrasyonu, ambalaj malzemesinin geçirgenlik özelliklerine ve ürünün solunum özelliklerine bağlı olarak zamanla kendiliğinden değişmektedir. Ambalaj içerisindeki O<sub>2</sub> konsantrasyonu azalmakta, CO<sub>2</sub> konsantrasyonu artmakta, ürünün solunum hızı azalmakta, olgunlaşması gecikmekte, rengi ve tazeliği korunmakta, mikrobiyal gelişmelerin hızı azalmakta ve ürünün kalite ve besin özellikleri korunarak, oksidasyon reaksiyonlarının azalması sonucu raf ömrü uzatılmaktadır (Kader ve ark., 1989; Vermeiren ve ark., 1999; Trappey ve ark., 2008; Fante ve ark., 2014). Ancak çok düşük O<sub>2</sub> seviyelerinin de anaerobik fermentasyona neden olması PM uygulamalarında önemli bir noktadır. Bu nedenle bu ürünlerin raf ömrünü uzatabilmek için, hem aerobik hem de anaerobik solunumun kontrol altında tutulması gerekmektedir. Anaerobik solunumun başladığı kritik oksijen konsantrasyonu ürün çeşidine göre farklılık göstermekle beraber, PM uygulamasında solunum hızının düşürülebilmesi için O<sub>2</sub> konsantrasyonunun %1'in altına düşmemesi ve genellikle % 2-5 oranında olması gerektiği belirtilmektedir (Kader, 1980; Kader, 1987; Zagory ve Kader, 1988; Kader, 1989; Amanatidou, 2000; Jacxsens ve ark., 2001; Jacxsens ve ark., 2002; Barth, 2009).

Aktif modifikasyon (AM) ise ambalaj içerisinde istenen gaz bileşiminin oluşturulması için dışarıdan müdahale gerektiren bir uygulama olup gıdaya uygun, belirli oranlardaki gaz karışımlarının ambalaj



içine verilmesiyle gerçekleştirilmektedir (Üçüncü, 2007). AM, özellikle normal atmosferik ortamda kalite kaybının hızlı olduğu veya pasif olarak değişimin mümkün olmadığı ürünlerde kullanılmaktadır. Çünkü pasif modifikasyonda denge gaz bileşime ulaşılması zaman alırken aktif modifikasyonda 0.günden itibaren ortam modifikasyonu sağlanmaktadır.

Aktif ambalajlama teknolojisi ise, gıdaların bozulma reaksiyonlarının hızının azaltılması ve gıdanın raf ömrünün daha da uzatılabilmesi için ambalaj içindeki ortama ya da ambalaj materyaline bazı aktif bileşenlerin eklenerek ambalaj ortamının modifiye edilmesidir. Bu amaçla salıcı-yayıcı ya da emici-tutucu bazı aktif bileşenlerden yararlanılabilmektedir (Ramos ve ark., 2013). Bu amaçla kullanılabilecek sistemlerden biri etilen tutuculardır.

Etilen, özellikle sebze ve meyvelerde hasat öncesi ve sonrası dönemde; büyüme, gelişme, olgunlaşma olaylarını düzenleyen; meyve ve sebzenin hasat zamanını ve kriterlerini belirleyen, özellikle klimakterik meyve ve sebzelerde hasat sonrası solunum hızını, olgunlaşmayı ve süregelen bozulma reaksiyonlarını, dolayısıyla raf ömrünü etkileyen bir bitki hormonudur. Meyve ve sebzenin olgunlaşmasını kolaylaştırması pozitif bir etki olmasına karşın, solunum hızlarını artırarak söz konusu ürünlerin raf ömürlerini kısaltması ve ayrıca klorofil bozunumu, antioksidan aktivite kaybı, askorbik asit bozunumu, fenolik bileşik kaybı gibi fizyolojik olaylarda da hızlandırıcı rol oynaması negatif etkilerdir (Hu ve ark., 2019). Şu halde meyve ve sebzelerin olgunlaşma hızlarını azaltarak raf ömürlerinin uzatılması ve duyuşal özelliklerinin korunabilmesi için, etilen gazının ambalaj içinde birikmesinin önlenmesi ve ambalaj atmosferinden uzaklaştırılması gerekir. Bu amaçla etilen absorbe eden çeşitli etilen tutuculardan yararlanılır. Çoğunlukla potasyum permanganat, paladyum klorür içeren aktif karbon, zeolit kullanılarak elde edilen etilen tutucu sistemler, ambalaj filminin kaplanması, kesecik halinde gıda ambalajının içine yerleştirilmesi şeklinde kullanılarak ambalaj içerisinde üretilen etilenin ambalaj içinde birikmesini engelleyerek kontrol altına alınıp, gıdanın kalitesinin ve raf ömrünü arttırmaktadır (Üçüncü, 2007).

Yeşil yapraklı sebzelerin, zengin diyet lifi, vitamin, mineral, karotenoid ve fenolik madde içeriklerine sahip oldukları bilinmektedir. Özellikle içerdikleri askorbik asit, fenolik ve karotenoid bileşiklerin bu sebze grubunun toplam antioksidan kapasitesine katkısı oldukça fazladır (Isabelle ve ark., 2010). Bu sebzelerde bulunan klorofiller (klorofil a ve klorofil b) yüksek antioksidan aktiviteye sahip karotenoid bileşiklerle birlikte ürünün kalitesine ve pazarlamasında büyük öneme sahip renkten sorumludurlar (Pennington and Fisher, 2009). Ispanak da yeşil yapraklı bir sebze olup yüksek miktarda kalsiyum ve magnezyum; fosfor, demir, potasyum, A, K, B, B2, B6, E ve C vitaminleri içermektedir. Taze doğranmış ıspanak solunum hızı yüksek ve etilene karşı duyarlı bir sebze olduğu için solunum hızının azaltılması, klorofil yıkım hızının azalması, etilen üretimi ve duyarlılığının azaltılması açısından oldukça önemlidir.

Bu çalışmada taze doğranmış 'Reis' çeşidi ıspanak kullanılmıştır. Çalışmanın ilk aşamasında, taze doğranmış ıspanak örnekleri PM ve AM ambalajlama uygulamaları yapılarak, taze doğranmış ıspanağın modifiye atmosferde ambalajlanmasında en uygun olan ambalaj malzemeleri belirlenmiştir. Bu amaçla taze doğranmış ıspanaklar, oksijen geçirgenlik hızları farklı 8 adet polimerik ambalaj malzemesi ile ambalajlanmış, +4°C ve %90 bağıl nem koşullarında depolanmış ve tepe boşluğu gaz konsantrasyonları birer günlük periyotlarla 15 gün boyunca ölçülerek, taze doğranmış ıspanağın PM ve AM ile ambalajlanmasında en uygun ambalaj malzemeleri belirlenmiştir. Çalışmanın 2. aşamasında ise örnekler belirlenen ambalaj malzemeleri ile PM ve AM yapılarak belirtilen depolama koşullarında 12 gün süreyle depolanmıştır. Ayrıca etilen gazının taze doğranmış ıspanağın besin değerleri üzerindeki etkisini incelemek amacıyla her bir ambalajlama uygulamasında örnekler etilen tutucu (ET) poşetler kullanılarak ambalajlanmıştır. Yapılan 4 farklı ambalaj uygulamasının taze doğranmış ıspanağın toplam klorofil miktarı, askorbik asit miktarı, toplam antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde miktarı üzerindeki etkisi incelenmiştir.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

İzmir'in Menemen ilçesinde kış mevsiminde yetişen Reis çeşidi ıspanak, tarladan hasat edildiği gün temin edilmiştir. Örneklerin ambalajlanmasında taze meyve ve sebze ambalajlanmasında kullanımına uygun olan ve farklı firmalardan temin edilen, özellikleri Tablo 1'de verilen polimerik ambalaj malzemeleri kullanılmıştır. Etilen tutucu olarak Ryan Ethlene Absorption Sachets adlı 5 g'lık potasyum

permanganat bazlı ve 6.5cm x 6.5cm boyutunda SENSITECH NCX Drahorad SRL poşetler (İtalya) kullanılmıştır.

Tablo 1. Taze doğranmış ıspanak örnekleri için kullanılan ambalaj malzemelerinin özellikleri

Film	Kalınlık(µm)	OTR 23 °C %0 RH cc/m <sup>2</sup> .gün	WTR 38 °C %90 RH g/m <sup>2</sup> .gün
BOPP1	40	1300	4.00
BOPP 2	20	2100	7.00
MP	110	1419.5	2.92
HDPE	7.5	40761	52.5
BF	20	80	0.50
LDPE1	60	4092	5.9
LDPE2	40	6138	8.3
LDPE3	20	12276	12.4

## Metod

### Örneklere Uygulanan İşlemler

Tarladan hasat edildiği gün temin edilen ıspanak aynı gün Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Meyve Sebze Laboratuvarında yer alan soğuk hava deposunda işletme koşullarında hazırlanmıştır. Bu amaçla önce kökleri kesilip, kullanılmayacak durumunda olan yapraklar uzaklaştırdıktan sonra çeşme suyu ile 2 defa ön yıkama işlemi gerçekleştirilip, doğranıp, dezenfeksiyon amacıyla 180 ppm'lik klorlu suda 2 dk bekletilmiş ve 2 dk çeşme suyunda durulanmıştır. Ardından fazla suyu uzaklaştırmak amacıyla ev tipi 300 rpm santrifüj uygulanmıştır. Örnekler daha sonra 4°C'de iki saat süreyle ortam sıcaklığında kurumaya bırakılmış ve aşağıdaki deneme planında verildiği gibi PM, AM, PM+ET ve AM+ET uygulamaları ile ambalajlanmıştır. Ambalajlama işlemi, PM için PackTech (PCS300P) ısıl yapıştırma makinesi kullanılarak yapılmıştır. Modifiye atmosferde ambalajlama ise Tamtaş, Boxer 42 (Türkiye) ambalaj makinesi ile yapılmıştır.

### Deneme Planı

**1. Aşama:** Taze doğranmış ıspanak, özellikleri Tablo 1'de verilen farklı ambalaj filmleriyle normal atmosferik hava (PM) ve %6 O<sub>2</sub> ve %7 CO<sub>2</sub> olacak şekilde (AM) modifiye atmosferde ambalajlanmış ve +4°C % 90 bağıl nemde depolanmıştır. 15 günlük depolama süresi boyunca birer günlük periyotlarla tepe boşluğu gaz konsantrasyonları analiz edilmiştir.

### 2. Aşama:

a) Pasif modifikasyon yöntemiyle ambalajlama: 1. aşama analiz sonuçlarına göre, denge gaz bileşimine en kısa sürede ulaşan ve bu gaz kompozisyonunu en iyi muhafaza eden film ile örnekler normal atmosferik hava ile ambalajlanmış (PM) veya ambalajın içerisine etilen tutucu konularak aktif ambalajlama (PM+ET) yöntemleriyle ambalajlanmıştır.

b) Aktif modifikasyon yöntemiyle ambalajlama: Örnekler 1.aşamadan belirlenen en uygun ambalaj malzemesi ile atmosfer bileşimi %6 O<sub>2</sub> ve %7 CO<sub>2</sub> olacak şekilde aktif modifikasyon (AM) yapılarak ve ayrıca ambalajın içerisine etilen tutucu konularak aktif ambalajlama (AM+ET) yöntemleriyle ambalajlanmıştır.

Tüm örnekler +4°C %90 bağıl nemde depolanmıştır. Bu aşamada ürünün toplam klorofil miktarı, askorbik asit miktarı, toplam anitoksidan aktivite (%DPPH) ve toplam fenolik madde miktarındaki değişimler depolamanın 0,1,3,4,5,7,8,9,10,11,12 günlerinde gerçekleştirilmiştir. Üretim iki tekrerr, analizler ise en az iki paralel olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

## ANALİZLER

### Tepe Boşluğu Analizi

Ambalaj atmosferindeki O<sub>2</sub> ve CO<sub>2</sub> konsantrasyonlarındaki değişim PBI Dansensor Check Pointer marka (Ringsted, Denmark) dijital tepe boşluğu analizörü kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

### Toplam Klorofil Analizi

Bruinsma (1963) yöntemine göre gerçekleştirilen analizde, 5 g örnek tartılarak 20 ml % 80'lik aseton ile homojenizasyon işlemi uygulanmıştır. Ardından 8000 rpm'de 15 dk santrifüj işlemi yapıp, Whatman No.1 ve 42 filtre kağıtları ile filtrasyon işlemi gerçekleştirilerek hacim 25 ml'ye tamamlanmıştır. 663 nm ve 645 nm'de absorbans değerleri ölçülerek aşağıda verilen denklemler ile örneklerin toplam klorofil içeriği (µg/g taze ağırlık) belirlenmiştir.

$$C_a = 12,21 * A_{663} - 2,81 * A_{645}$$

$$C_b = 20,13 * A_{645} - 5,03 * A_{663}$$

$$C_t = C_a + C_b$$

### Askorbik Asit Analizi

Hışıl (2004) yöntemine göre spektrofotometrik olarak gerçekleştirilmiştir. 10 g örnek, 90 ml okzalik asit (%0.4'lük) çözeltisiyle homojen hale getirildikten sonra filtre edilmiş ve 1 ml filtrat üzerine 9 mL boya çözeltisi (2.6- dichloroindophenol, Na tuzu) eklendikten sonra spektrofotometrede 518 nm de absorbans ölçülmüştür. Sonuçlar "mg askorbik asit /100g" olarak, farklı konsantrasyonlarda (1-5 mg/100ml) askorbik asit standart çözeltileri kullanılarak hesaplanmıştır.

### Toplam Antioksidan Aktivite Analizi

Brand Williams et al. (1995) yöntemine göre gerçekleştirilmiştir. 1:10 oranında seyreltilmiş ıspanak suyundan 200 µL alınarak 1800 µL DPPH (100mM) solüsyonu ile karıştırılmış ve oda sıcaklığında 1 saat bekletilmiştir. Süre sonunda örnek absorbansları 517 nm'de UV spektrofotometrede ölçülerek DPPH radikalinin % inhibisyon değeri aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Antioksidan Aktivitesi} = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) * 100 / A_{\text{kontrol}}$$

A<sub>kontrol</sub> : Kontrolün absorbansı

A<sub>örnek</sub> : Örneğin absorbansı

### Toplam Fenolik Madde Analizi

Xu and Chang (2007) yöntemine göre gerçekleştirilmiştir. 5 g ıspanak örneğine, 50 mL metanol eklenerek 60 dakika süreyle 40°C'de ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Süre bitiminde örnekler süzülüş ve 50 µL alınarak 3 mL saf su, 250 µL Folin-Ciocalteu ayırıcı ve 750 µL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisi eklenerek 8 dk bekletildikten sonra, 950 µL saf su eklenen örnekler alüminyum folyo ile kapatılarak reaksiyonun tamamlanması için 2 saat karanlık bir ortamda bekletilmiştir. Folin ayırıcı ile muamele edildikten sonra oluşan mavi renk UV spektrofotometrede 765 nm dalga boyunda şahide karşı okunmuştur. Örnekte ölçülen absorbans değerinin gallik asit cinsinden eşdeğeri olan fenolik bileşik miktarı, gallik asit ile hazırlanmış olan standart kalibrasyon eğrisi yardımıyla hesaplanmıştır. Örnekteki toplam fenolik bileşik miktarı "mg gallik asit/g" olarak ifade edilmiştir.

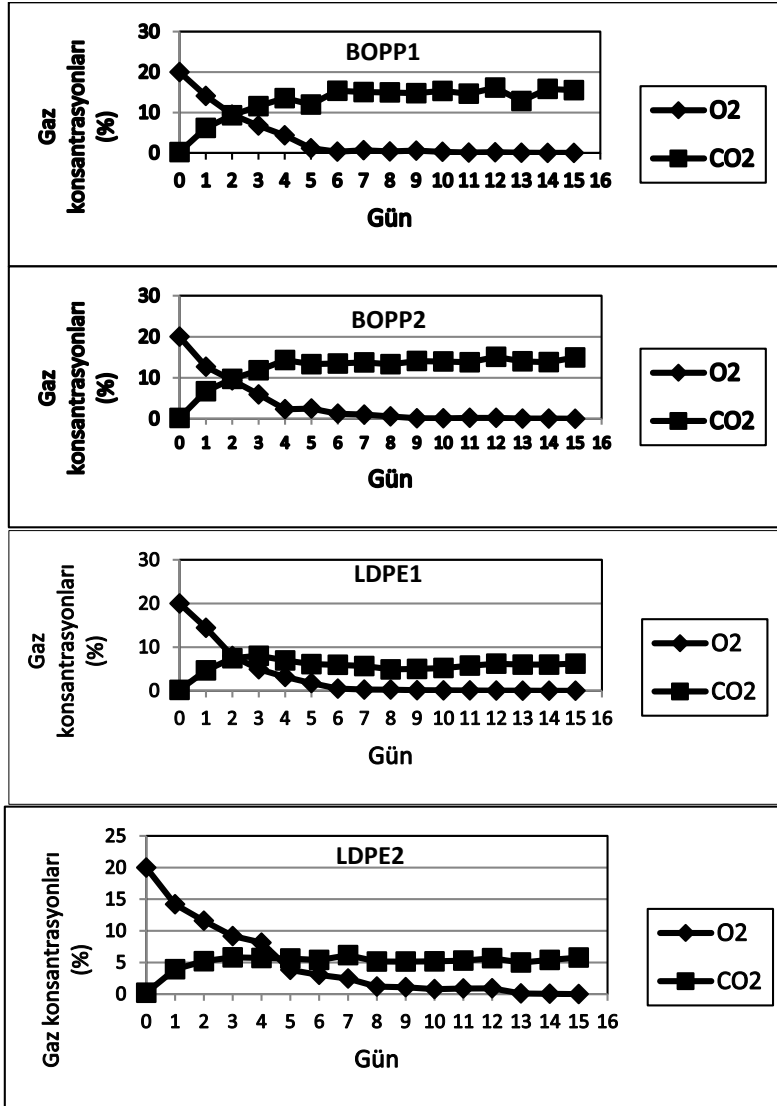
## ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

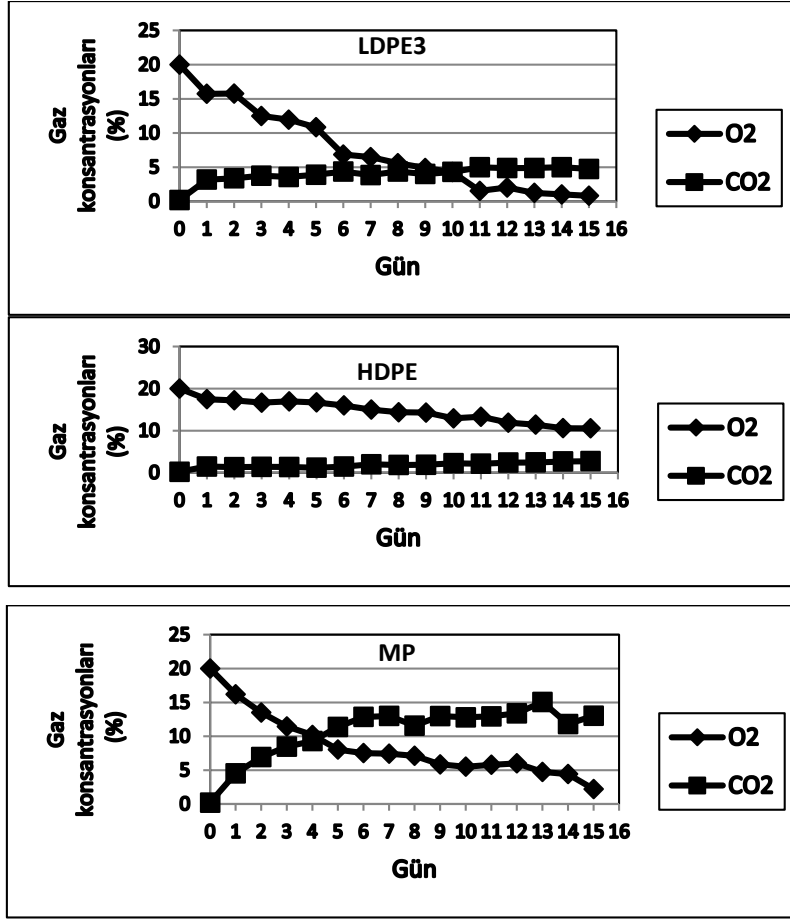
### 1. Aşama: Uygun Ambalaj Materyalinin Belirlenmesi

#### Pasif modifikasyon:

Şekil 1'den de görüldüğü gibi, oksijen geçirgenliği değerleri (OTR) 1300-4092 cc/m<sup>2</sup>gün arasında değişen BOPP1, BOPP2, LDPE1 ambalaj filmlerinde sırasıyla 6. , 9. ve 6. günlerde O<sub>2</sub> konsantrasyonları %1'in altına düşmüştür. OTR değeri 6138 cc/m<sup>2</sup>gün olan LDPE2 ambalaj filmi için 5. Günden itibaren denge gaz bileşimine ulaşılmış, 13. günde O<sub>2</sub> konsantrasyonu %1'in altına düşmüştür. Tepe boşluğundaki O<sub>2</sub> konsantrasyonunun %1'in altına düşmesi ile ürün anaerobik fermantasyona uğramakta,

istenmeyen metabolitler oluşmakta ve fizyolojik bozulmalar ortaya çıkmaktadır. (Zagory ve Kader, 1988; Soliva-Fortuny ve ark., 2002; Soliva-Fortuny ve Martin-Belloso, 2003). Bu yüzden taze doğranmış ıspanağın ambalajlanmasında bu filmlerin uygun olmadığı saptanmıştır. OTR değeri 12276 cc/m<sup>2</sup>gün olan LDPE3 ambalaj filminde ise 11. gün itibariyle %2 O<sub>2</sub> ve %5 CO<sub>2</sub> olacak şekilde denge gaz bileşimine ulaşırken, OTR değeri 40761 cc/m<sup>2</sup>gün olan HDPE filminde ise depolama süresince O<sub>2</sub> konsantrasyonu % 10'a düşmüş, CO<sub>2</sub> konsantrasyonu ise %3 değerine yükselmiş ve ambalaj malzemesinin yüksek gaz geçirgenliğine sahip olması nedeniyle istenen denge gaz bileşimleri sağlanamamıştır. OTR değeri 1419.5 cc/m<sup>2</sup>gün olan MP ambalaj filminde O<sub>2</sub> konsantrasyonunun 5. gün itibariyle %6 civarında, CO<sub>2</sub> konsantrasyonunun ise %11 civarında olacak şekilde denge gaz bileşimine ulaşıldığı ve bu değerlerin depolama süresince muhafaza edildiği görülmektedir.





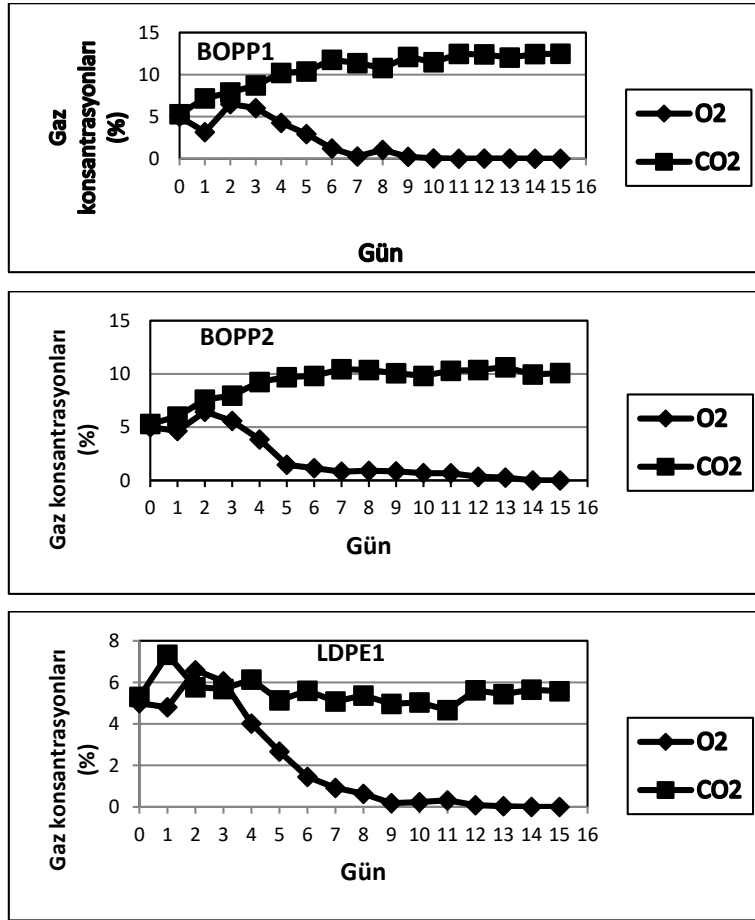
Şekil 1. Pasif modifikasyonda ambalajlanan taze doğranmış ıspanak örneklerinin depolama süresi boyunca tepe boşluğu gaz konsantrasyonlarındaki değişimler

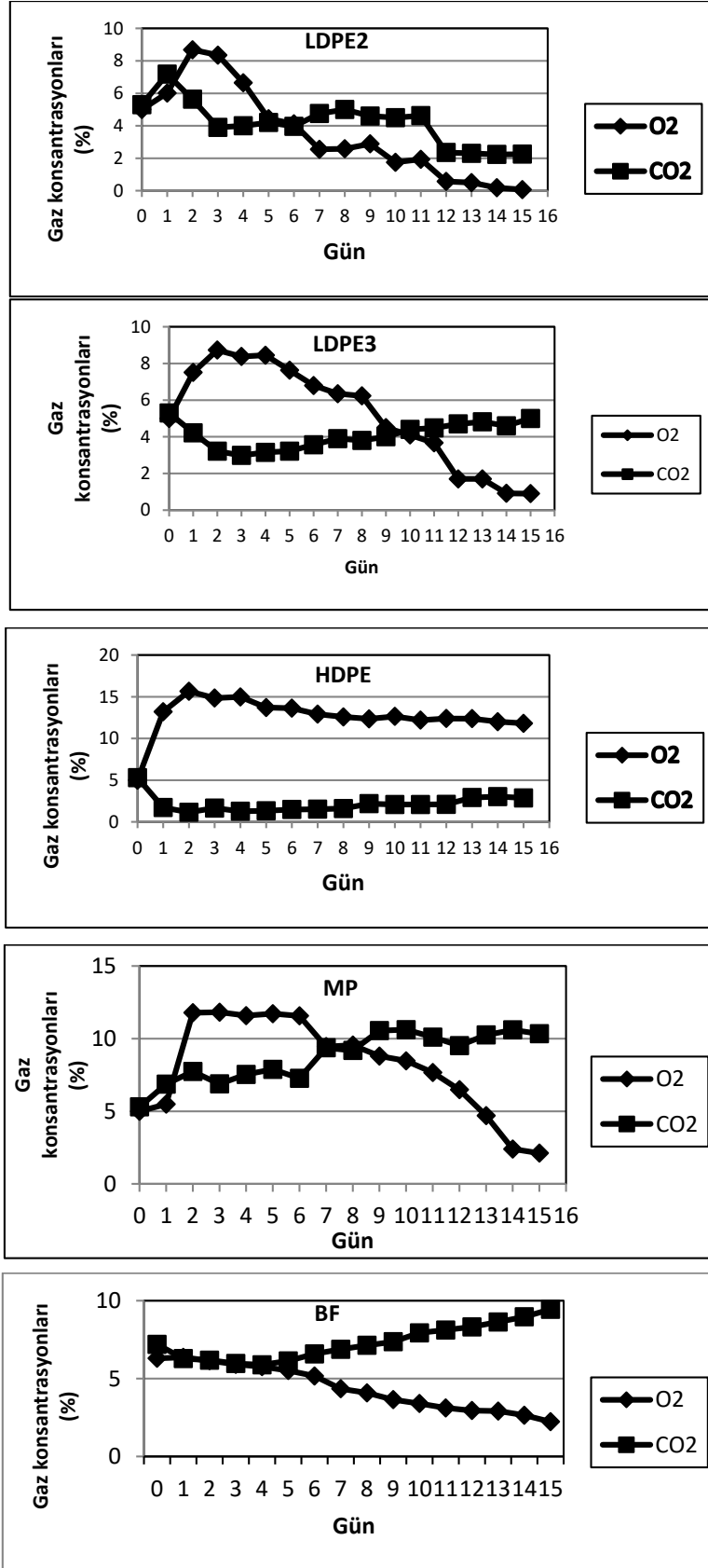
Araştırma bulgularımıza benzer olarak Conte ve ark., (2008); taze doğranmış bebek ıspanakların pasif modifikasyonda ambalajlanmasıyla ilgili yaptıkları çalışmada, gerçekleştirdiğimiz projede kullanılan ambalaj malzemelerinin oksijen geçirgenliğine benzer özellikte OPP(Tek yönlü gerdirilmiş polipropilen) (OTR: 1582 cc/m<sup>2</sup>gün) film kullanmışlar ve 5°C’de 13 gün depolama süresince denge gaz bileşimine ulaşamadığını belirtmişlerdir. Nitekim Medina ve ark., (2012) da OTR değeri 529 cc/m<sup>2</sup> gün olan PP ambalajlarda 7°C’de depolanan minimum işlem görmüş taze ıspanakların, 12 gün depolama süresince O<sub>2</sub> gaz konsantrasyonunun düştüğü, CO<sub>2</sub> konsantrasyonunun yükseldiği ancak denge gaz bileşimine ulaşamadığını belirtmişlerdir.

Literatürde yer alan çalışmalarda taze doğranmış ıspanağın PM ambalajlanmasında denge gaz konsantrasyonları ve dengeye ulaşma sürelerinde farklılıklar olduğu görülmektedir (Allende ve ark., 2004; Pandrangi and Laborde, 2004; Conte ve ark., 2008; Artes-Hernandez ve ark., 2008; Medina ve ark., 2012; Kou ve ark., 2014). Pasif modifiye atmosfer uygulamalarında taze doğranmış ıspanak için yapılan çalışmalarda LDPE (alçak yoğunluklu polietilen), PP, mikro perfore veya makro perfore OPP gibi OTR değerleri birbirinden çok farklı polimerik ambalaj materyallerinin kullanıldığı görülmektedir. Elde ettiğimiz sonuçlara benzer bir şekilde yüksek solunum hızına sahip ürünler için PM uygulamalarında en hızlı denge gaz bileşimine mikro perfore filmlerle ulaşılmıştır. Mikro perfore filmlerde, O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> geçiş oranı normal koşullarda 1’e yaklaşmakta ve denge gaz bileşimine ulaşıldığında tepe boşluğunda düşük O<sub>2</sub> ve yüksek CO<sub>2</sub> konsantrasyonları sağlanabilmektedir. (Brody, 2005; González ve ark., 2008; Larsen ve Liland, 2013; Hussein ve ark., 2015). Bu nedenle gerçekleştirdiğimiz çalışmada MP ambalaj filminin, diğer polimerik ambalajlara göre tepe boşluğunda istenilen koşulları daha iyi sağladığı sonucuna varılmıştır.

### Aktif Modifikasyon:

Şekil 2’de görüldüğü gibi, BOPP1, BOPP2 ve LDPE1 için O<sub>2</sub> konsantrasyonunun depolama süresince düştüğü, denge gaz bileşiminin sağlanamadığı ve 7. günden itibaren O<sub>2</sub> konsantrasyonunun %1’in altına düştüğü görülmüştür. LDPE2 ve LDPE3 için de benzer bir durum oluşmuştur ve O<sub>2</sub> konsantrasyonu sırasıyla 12. ve 14. günden itibaren %1’in altına düşmüştür. Bu durumda başlayabilecek anaerobik bozulma, istenmeyen metabolitlerin üretilmesi, fermantasyonun başlamasıyla ortaya çıkabilecek asetaldehit gibi kötü kokulu bileşiklerin oluşmasından dolayı (Zagory ve Kader, 1988; Soliva-Fortuny ve ark., 2002) BOPP1, BOPP2, LDPE1, LDPE2 ve LDPE3 ambalaj filmlerinin uygun olmadığı sonucuna varılmıştır. HDPE filminde ise ambalaj malzemesinin OTR değerinin çok yüksek olmasından dolayı istenen denge gaz bileşimi sağlanamamıştır. Depolama süresi boyunca O<sub>2</sub> konsantrasyonu %12’nin üstünde, CO<sub>2</sub> konsantrasyonu ise %2 civarında kalmıştır. MP filminin ise LDPE3 ve HDPE filmlerine göre oksijen geçirgenliğinin düşük olması nedeniyle istenen O<sub>2</sub> ve CO<sub>2</sub> konsantrasyonları 14. günde dengeye ulaşmıştır. OTR değeri 80 cc/m<sup>2</sup>gün olan ambalaj filmleriyle (BF) ambalajlanmış ıspanak örneklerinde ise 1. gün itibarıyla %6 O<sub>2</sub> ve %6 CO<sub>2</sub> olarak denge gaz bileşimine ulaşılmış, 6. güne kadar denge-gaz bileşimi muhafaza edilmiş ve 7. günden itibaren O<sub>2</sub> konsantrasyonu düşme, CO<sub>2</sub> konsantrasyonu yükselme göstermiştir. 15 günlük depolama sonunda O<sub>2</sub> konsantrasyonu %2.23, CO<sub>2</sub> konsantrasyonu %9.45’e ulaşmıştır. Bu sonuçlar itibarıyla BF ambalaj filminin, oksijen geçirgenlik değerinin diğer ambalaj filmlerine göre çok daha düşük olması nedeniyle AM uygulamasında ambalaj içine verilen gaz konsantrasyonunu muhafaza etmede daha başarılı olduğu belirlenmiştir. Solunum olayı devam ettiğinden dolayı depolamanın ilerleyen günlerinde O<sub>2</sub> ve CO<sub>2</sub> konsantrasyonlarında az da olsa değişimler olmuş ancak bu değişimler denge gaz bileşimi açısından kabul edilebilir değerlerde kalmıştır. Tüm bu sonuçlar göz önüne alındığında taze doğranmış ıspanağın AM uygulaması için BF, en uygun ambalaj malzemesi olarak belirlenmiştir.





Şekil 2. Aktif modifikasyonda ambalajlanan taze doğranmış ıspanak örneklerinin depolama süresi boyunca tepe boşluğu gaz konsantrasyonlarındaki değişimler

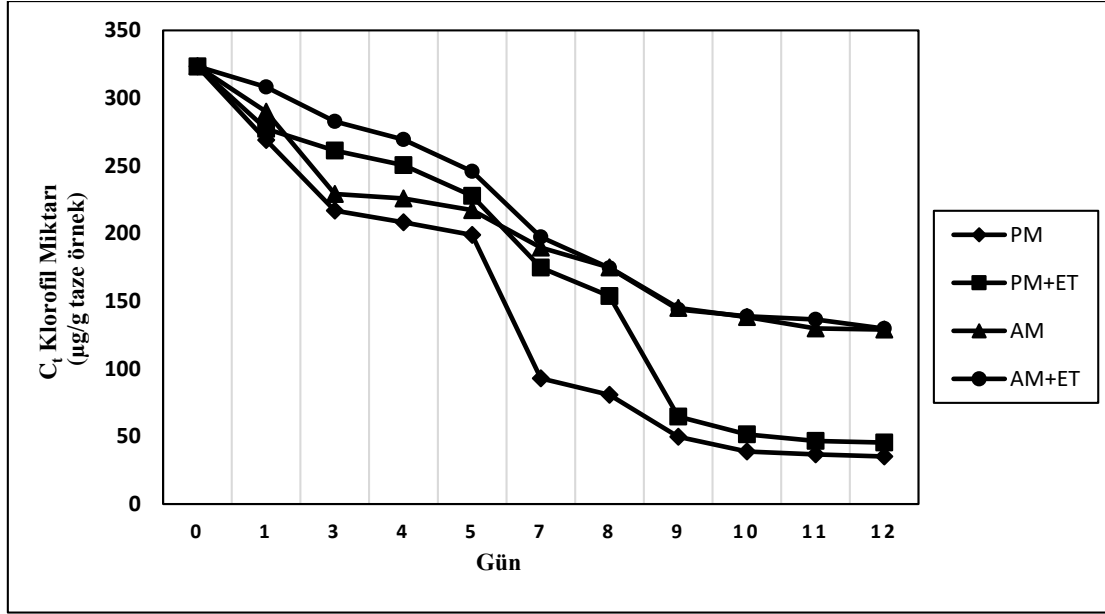
## 2. Aşama: Kimyasal Analiz Sonuçları

### Toplam Klorofil Miktarındaki Değişmeler

Taze doğranmış ıspanak örneklerinin 12 günlük depolama süresi boyunca toplam klorofil miktarındaki değişim Şekil 3'te görüldüğü gibidir. 323,42 µg/g olan başlangıç klorofil miktarı, depolama süresi boyunca istatistiksel olarak da önemli düzeyde düşmüştür ( $p \leq 0.05$ ). En fazla düşüşün görüldüğü PM uygulamasında, özellikle 7.günde 92.91 µg/g olarak keskin bir düşüş gözlenmiş ve 12.günde 35.16 µg/g'a düşmüştür. PM+ET uygulamasında ise toplam klorofil miktarındaki azalmalar PM uygulamasına göre daha düşük olmuş, 7.günde 174,71 µg/g'a düşerken, depolama süresinin sonunda 45.47 µg/g olarak belirlenmiştir. AM ve AM+ET uygulamalarında ise örneklerin toplam klorofil miktarları açısından daha yüksek değerler elde edilirken, her iki örnekte de toplam klorofil miktarının depolama periyodu boyunca kademeli olarak azaldığı, PM ve PM+ET uygulamalarında olduğu gibi ani düşüşlerin olmadığı belirlenmiştir. Depolama süresinin sonundaki toplam klorofil miktarları, AM uygulamasında 128,91 µg/g, AM+ET uygulamasında 129,7 µg/g olarak tespit edilmiştir. Toplam klorofil miktarındaki PM ve AM uygulamaları arasındaki bu farklılığın, ambalajların içindeki O<sub>2</sub> ve CO<sub>2</sub> konsantrasyonlarından kaynaklandığı düşünülmektedir. PM uygulamasında 0.günde ortamda CO<sub>2</sub> konsantrasyonunun bulunmaması, O<sub>2</sub> konsantrasyonunun %21 olması, zamanla denge gaz bileşimine ulaşılması, buna karşın AM uygulamasında ambalaj içerisinde 0.günden itibaren düşük O<sub>2</sub> ve yüksek CO<sub>2</sub> konsantrasyonunun bulunmasının bu duruma sebebiyet verdiği düşünülmektedir. PM uygulamasında ambalaj içerisinde bulunan yüksek O<sub>2</sub> miktarları klorofilin daha hızlı parçalanmasına sebebiyet vermiş, AM uygulamasında da ambalaj içerisinde PM uygulamasına kıyasla daha yüksek CO<sub>2</sub> ve daha düşük O<sub>2</sub> konsantrasyonunun bulunması klorofilin daha yavaş bir hızla bozunmasını sağlamıştır. Toleres ve ark. (2020), rokanın PM ve AM ile ambalajlanmasında, düşük O<sub>2</sub> ve yüksek CO<sub>2</sub> konsantrasyonlarının klorofil bozunmasını geciktirmede etkili olduğunu göstermiştir. Aynı çalışmada, elde ettiğimiz sonuçlara benzer bir şekilde AM uygulamasında, PM uygulamasına göre daha yüksek klorofil miktarları elde etmişlerdir. Preethave ark. (2015), taze doğranmış acı kavunda 15 günlük depolama süresince %3 O<sub>2</sub> ve %5 CO<sub>2</sub> konsantrasyonundan oluşan AM uygulamasında, PM uygulamasına göre klorofil miktarının daha iyi muhafaza edildiğini belirlemişlerdir. Bunun yanı sıra depolama sırasında düşük O<sub>2</sub> ve yüksek CO<sub>2</sub> miktarlarının meyve ve sebzelerin klorofil miktarlarını korumada, klorofilin bozunmasını engellemede etkili olduğu farklı çalışmalarda da gösterilmiştir (Wang ve ark., 2019; Chandra ve ark., 2019; Sanchez-Ballesta ve ark., 2007; Wang ve ar., 2020; Abe and Watada (1991) ve Toivonen (1982), Chen 2008).

Her iki uygulama (PM ve AM), etilen tutucu (ET) kullanımı açısından değerlendirildiğinde ise, PM uygulamasında ET kullanımının AM uygulamasına göre daha etkili olduğu belirlenmiştir. PM uygulamasında özellikle depolamanın ilk 8 gününde ET kullanımı daha etkili olmuş ve 8.günde PM+ET uygulamasında %50 oranında toplam klorofil miktarı daha yüksek çıkmıştır. Depolamanın sonlarına doğru PM ve PM+ET uygulamalarının klorofil miktarları arasında farklılık azalmıştır. AM ile AM+ET uygulamasındaki klorofil miktarları arasındaki önemli düzeyde farklılık görülmemiştir ( $p > 0.05$ ). Etilen, taze meyve ve sebzelerde olgunlaşmayı hızlandırır ve klorofil yıkımına sebep olur (Mariah ve ark.,2022). Bu nedenle ambalajın içindeki etilenin uzaklaştırılması klorofil bozunmasında etkilidir. Özellikle klorofil bozunmasının daha fazla görüldüğü PM uygulamasında bu etki daha net bir şekilde görülmüştür. AM uygulamasında ise zaten uygun gaz kombinasyonunun 0.günden itibaren sağlanmasına bağlı olarak örneklerin solunum hızlarının düşmüş olması nedeniyle etilen oluşumunun fazla olmadığı düşünülmektedir. Pek çok çalışmada yeşil yapraklı sebzelerdeki klorofil kaybı depolama sırasındaki etilen üretimi ile ilişkilendirilmektedir (Chen ve ark., 2008; Cao ve ark. (2015). Cao et al.(2015), etilen tutucu içeren ambalaj materyallerinde depolanan brokolide, etilen tutucunun depolama süresi boyunca toplam klorofil miktarındaki azalmayı önemli ölçüde engellediğini belirlemişlerdir.



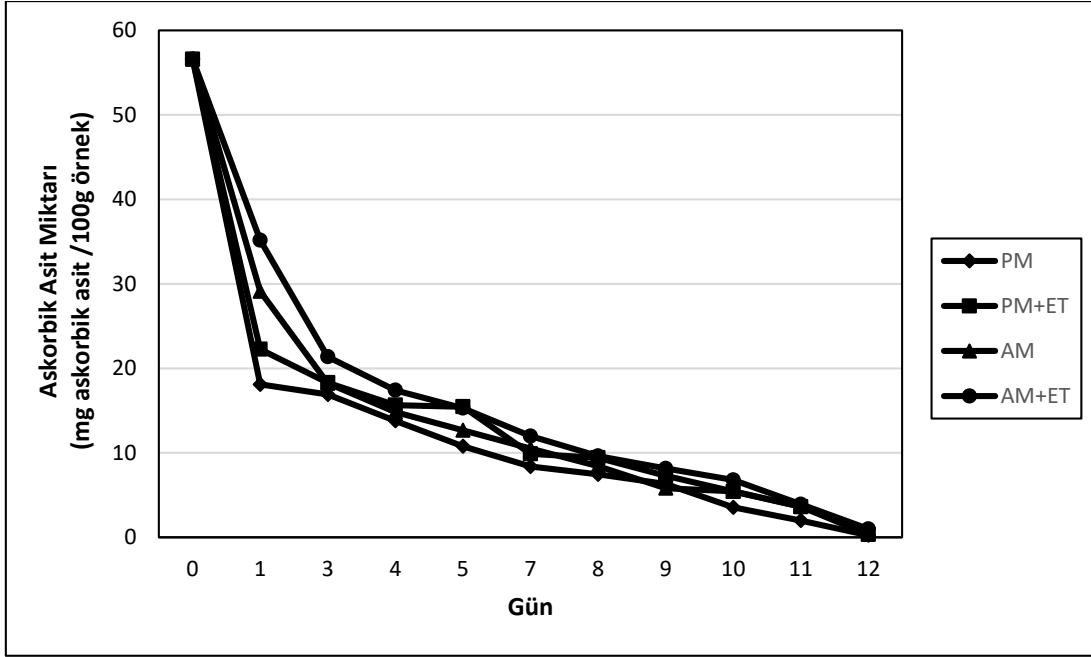


Şekil 3. Farklı ambalajlama uygulamalarıyla ambalajlanmış taze doğranmış ıspanak örneklerinin depolama süresince toplam klorofil miktarındaki değişim

#### Askorbik Asit (AA) Miktarındaki Değişmeler

Taze doğranmış ıspanak örneklerinin askorbik asit miktarındaki değişim Şekil 4'te görüldüğü gibidir. Başlangıç AA miktarı 56.6 mg/100g iken, tüm ambalajlama uygulamalarında depolamanın 1.gününde ani bir azalma gözlenmiş ve bu azalma en fazla 18.10 mg/100g olarak PM uygulamasında görülmüştür. Başka bir deyişle PM uygulamasında 1.günde AA'nin %68'i bozunmuştur. AM uygulamasında ise PM uygulamasına göre 1.günde daha yüksek AA miktarı 29.12 mg/100g olarak tespit edilmiş ve AM uygulamasında 1.günde AA'nin %48.55'i bozunmuştur. Depolamanın ilerleyen günlerinde AA miktarındaki azalmalar her iki uygulama için de kademeli olarak devam etmiş ve 12.günün sonunda AA miktarları PM uygulamasında 0.24 mg/100g, AM uygulamasında ise 0.53 mg/100g olmuştur. AA oksijene oldukça duyarlı bir bileşendir ve ortamdaki oksijen konsantrasyonu AA'nin bozunmasında etkilidir (Van Bree 2012; Fata 2018). Nitekim düşük O<sub>2</sub> konsantrasyonuna sahip atmosferde depolanan taze doğranmış ıspanakta, normal atmosferik ortamda depolanan örneklere göre daha yüksek AA miktarları tespit edilmiştir (Izumi, 1997). PM ve AM uygulamalarındaki O<sub>2</sub> konsantrasyonunun farklı olmasından dolayı PM uygulamasında depolamanın ilk günlerinde AA miktarındaki azalma daha fazla olmuştur. Depolamanın ilerleyen günlerinde denge gaz bileşiminin sağlanması nedeniyle PM ve AM uygulamaları arasındaki AA miktarındaki farklılık azalmıştır. AM uygulamalarında PM uygulamalarına göre depolama süresince AA'nin daha iyi muhafaza edilebildiği taze doğranmış kırmızı lahanada (Atress 2011), kırmızı dolma biberde (Cerit ve Demirkol, 2020), hünnap meyvesinde (Moradinezhad and Dorostkar, 2022), acı kavunda (Preetha ve ark., 2015), tanelenmiş narda (Belay ve ark., 2017) belirlenmiştir.

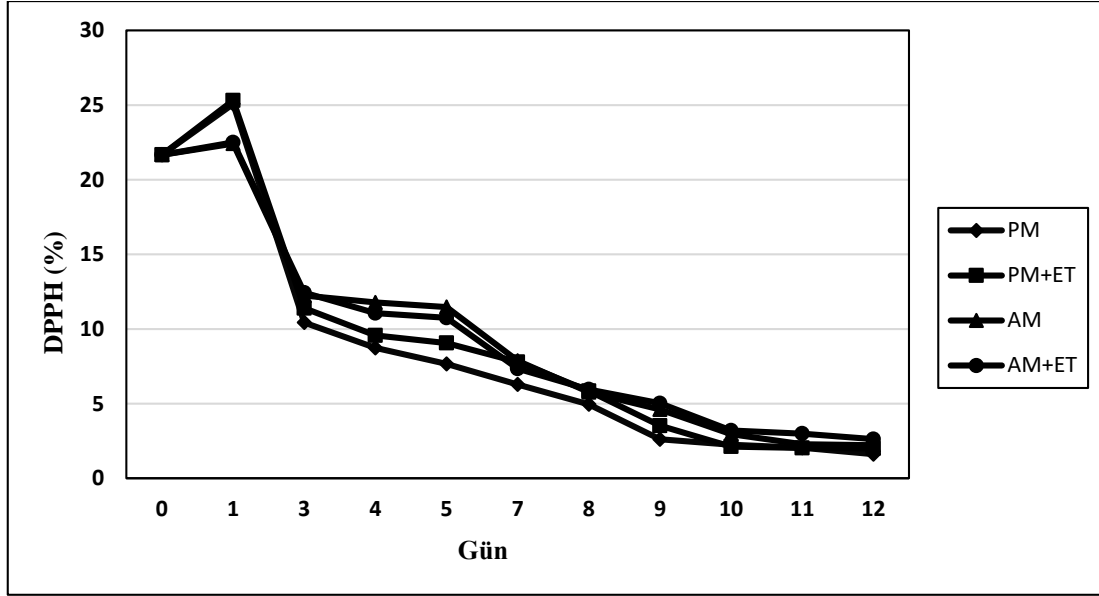
ET kullanımının ise her iki uygulamada da, AA korunması açısından daha etkili olduğu, özellikle 1.günde PM+ET uygulamasının PM'ye göre %7.24 oranında daha yüksek AA miktarına sahip olduğu, ancak depolamanın ilerleyen günlerinde bu değerlerin ortalama %2.49 olduğu belirlenmiştir. AM ve AM+ET uygulamaları karşılaştırıldığında 1.günde AM+ET uygulamasının AM uygulamasına kıyasla %10.38 oranında daha etkili olduğu, depolamanın ilerleyen günlerinde ise bu oranın ortalama %3.89 olduğu belirlenmiştir. Literatürde etilen tutucu kullanımının hem PM hem de AM uygulamalarında taze doğranmış meyve ve sebzelerde AA bozunmasının engellenmesi açısından olumlu etkilerinin olduğu farklı çalışmalarda gösterilmiştir (Murmu and Mishra, 2008; Cerit ve Demirkol, 2020; Tilahun ve ark., 2021).



Şekil 4. Farklı ambalajlama uygulamalarıyla ambalajlanmış taze doğranmış ıspanak örneklerinin depolama süresince askorbik asit miktarındaki değişim

#### Toplam Antioksidan Aktivite Değerindeki Değişmeler

Taze doğranmış ıspanak örneklerinin 12 günlük depolama süresi boyunca toplam antioksidan aktivite değerlerindeki değişim Şekil 5'te gösterilmiştir. Başlangıç değeri %21,67 olan antioksidan aktivite, tüm ambalajlama uygulamalarında, 1.günde hafifçe bir artış göstermiş ve 1.günden sonra depolama süresi boyunca istatistiksel açıdan anlamlı bir düşüş olmuştur ( $p \leq 0.05$ ). Düşüşün en fazla olduğu PM uygulamasında, antioksidan aktivitenin 3. günde %10,43'e ve 12. günde %1,61'e düştüğü gözlemlenmiştir. AM uygulamasında ise antioksidan aktivite miktarındaki azalmalar PM uygulamasına göre daha düşük olmuş, 3.günde %12,24 ve 12.günde % 2,22 olarak belirlenmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlara benzer olarak Li ve ark., (2012) gerçekleştirdikleri çalışmada, taze doğranmış armutların %DPPH değerlerinin PM ve AM (%5O<sub>2</sub>+%5CO<sub>2</sub>) uygulamalarıyla 12 günlük depolama süresi boyunca önemli ölçüde düştüğünü, AM uygulamasında PM uygulamasına göre daha yüksek antioksidan aktivite elde edildiğini ve depolama süresinin sonunda antioksidan aktivitenin her iki uygulamada da birbirine çok yakın olduğunu belirlemişlerdir. PM+ET ve AM+ET uygulamalarında ise depolama süresi boyunca ET kullanımı hafif düzeyde de olsa etkili olmuş ve ET kullanımı örneklerde daha yüksek antioksidan aktivite sağlamıştır. Tüm bu sonuçlar üzerinde ortamda bulunan O<sub>2</sub> konsantrasyonunun yüksek olması, ET ile ortamda bulunan etilenin tutularak ürünün solunum hızının azaltılıp daha düşük O<sub>2</sub> konsantrasyonlarının sağlanmasının etkili olduğu düşünülmektedir. Depolama süresince meydana gelen antioksidan içeriğindeki değişimin, antioksidan aktivite gösteren askorbik asit, antosiyaninler ve en çok da fenolik madde miktarındaki değişimden kaynaklandığı (Del Caro ve ark., 2004; Shivanskara ve ark., 2004; Gil ve ark., 2000) bildirilmiştir. Antioksidan aktivitenin azalma nedeni olarak, membranın zarar görmesi ve dolayısıyla antioksidan bileşiklerin niteliği ve kompozisyonunun değişimine neden olan oksidatif stres gösterilmektedir (Saltevit, 2000; Artes-Hernandez ve ark., 2008). Nitekim yaptığımız çalışmada taze doğranmış ıspanak örneklerinin toplam fenolik madde miktarı ile toplam antioksidan aktivitesi arasında lineer bir korelasyon olduğu belirlenmiştir (gruplar arasındaki:  $y=16.396x + 95.103$ ;  $R^2 = 0.957$ ). Pearson korelasyon testine göre de bu korelasyon anlamlı bulunmuştur ( $p \leq 0.05$ ).



Şekil 5. Farklı ambalajlama uygulamalarıyla ambalajlanmış taze doğranmış ıspanak örneklerinin depolama süresince %DPPH değerlerindeki değişim

### Toplam Fenolik Madde Değerindeki Değişmeler

Başlangıç değeri 4,41 mg GAE/kg olan taze doğranmış ıspanak örneklerinde depolama süresi boyunca gerçekleşen değişim Şekil 6'da görülmektedir. Elde edilen sonuçlara göre depolama süresince tüm ambalajlama uygulamalarında toplam fenolik madde miktarda anlamlı bir düşüş olmuştur ( $p \leq 0.05$ ). PM uygulamasının 3. gününde toplam fenolik madde değerinde 2,5 mg GAE/g'a önemli bir düşüş olurken, AM uygulamasında bu değer 3.90 mg GAE/g olarak belirlenmiştir. 12 günlük depolama süresi sonunda toplam fenolik madde miktarları PM ve AM uygulamalarında sırasıyla 0.02 ve 0.09 mg GAE/g olarak belirlenmiştir. Polifenol oksidaz enzimi  $O_2$  varlığında fenolik bileşikler okside etmektedir (Yılmaz ve Elmacı, 2018; Pekyardımcı, 1992). Bundan dolayı ortamdaki  $O_2$  konsantrasyonunu düşürmek fenolik bileşikler okside eden polifenol oksidaz enzim aktivitesinin engellenmesi açısından önemlidir. AM uygulamasının fenolik bileşikler muhafaza etmede PM uygulamasına göre daha etkili olduğu farklı çalışmalarda belirlenmiştir. Li ve ark.(2012) taze doğranmış armutta yaptıkları çalışmada, 12 günlük depolama süresi sonunda toplam fenolik bileşik miktarının %5 $O_2$ +%5 $CO_2$  gaz kombinasyonunda da önemli ölçüde düştüğünü, ancak PM uygulamasına göre toplam fenolik madde miktarının daha iyi muhafaza edildiğini belirtmişlerdir. Cocci ve ark.(2006) da taze doğranmış elmalarda, toplam fenolik bileşik miktarının muhafaza edilmesinde %5  $O_2$ +%5 $CO_2$ 'den oluşan AM uygulamasının, PM uygulamasına göre daha iyi muhafaza edildiğini tespit etmişlerdir. PM+ET ve AM+ET uygulamalarında ise özellikle depolamanın ilk 5 gününde ET kullanımı toplam fenolik bileşik miktarı açısından etkili olmuştur. PM uygulamasında başlangıçta yüksek  $O_2$  konsantrasyonu ürünün solunum hızının daha yüksek olmasına neden olarak etilen üretimini artırıcı etki göstermekte ve etilenin neden olduğu fizyolojik bozulmalar daha yüksek oranda gerçekleşmektedir (Hu ve ark., 2019). Bu nedenle özellikle ilk 5 gün boyunca ET kullanımının toplam fenolik miktarı üzerindeki etkisi daha fazla olmuştur.



Şekil 6. Farklı ambalajlama uygulamalarıyla ambalajlanmış taze doğranmış ıspanak örneklerinin depolama süresince toplam fenolik madde miktarındaki değişim

## SONUÇ

Gerçekleştirdiğimiz bu çalışma sonucunda taze doğranmış ıspanağın;

- Normal atmosferik hava ile ambalajlanmasında (PM) istenen denge gaz bileşimini sağlamada mikroperfore ambalaj malzemesinin daha uygun olduğu,
- Aktif modifikasyon yöntemi (AM) ile modifiye atmosferde ambalajlanmasında, bariyer özellikte ambalaj malzemesinin kullanımının daha uygun olduğu,
- Toplam klorofil miktarları açısından AM yönteminin PM yöntemine göre daha iyi sonuç verdiği, etilen tutucu kullanımının ise PM uygulamasında AM uygulamasına göre daha etkili olduğu,
- Toplam askorbik asit miktarı açısından özellikle depolamanın ilk günlerinde AM uygulamasının PM uygulamasına göre daha etkili olduğu, depolamanın sonlarına doğru 4 ambalajlama uygulaması arasında önemli farklılıklar bulunmadığı
- Antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde miktarı açısından ise AM ve AM+ET uygulamalarının etkili olduğu belirlenmiştir.

## DESTEK

Bu çalışma 5025 ID No ile Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

## KAYNAKÇA

Abe, K., Watada, A.E., 1991, Ethylene absorbent to maintain quality of lightly processed fruits and vegetables, *Journal of Food Science*, 56, 1589–1592 pp.

Allende, A., Luo, Y., McEvoy, J.L., Artés, F., Wang, Y. C., 2004, Microbial and quality changes in minimally processed baby spinach leaves stored under super atmospheric oxygen and modified atmosphere conditions, *Postharvest Biology and Technology* 33, 51–59 pp.

Amanatidou, A., Slump, R.A., Gorris, L.G.M., Smid, E.J., 2000, High oxygen and high carbondioxide modified atmospheres for shelf-life extension of minimally processed carrots. *Journal of Food Science*, 65, No.1

Artes, F., Martinez, J.A., 1996, Influence of packaging treatments on the keeping quality of ‘Salinas’ letuce, *Lebensm.-Wiss. u.-Technology*, 29, 664–668 pp.

- Artes-Hernandez, F., Escalona, V.H., Robles, P.A., Martinez-Hernandez, G.B., Artes, F., 2008, Effect of UV-C radiation on quality of minimally processed spinach leaves, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89, 414-412 pp.
- Atress, S.H.A., Aboul-Anean, H.E., Elmogy, M.M., 2011, Effect Of Active And Passive Modified Atmosphere Packaging On Quality Attributes Of Fresh Cut Red Cabbage, *Egypt . J. of Appl. Sci.*, 26(12), 328-338 pp
- Barth, M., Hankinson, T.R., Zhuang, H., Breidt, F., 2009, Microbiological Spoilage of Fruits and Vegetables. In “Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages”, *Food Microbiology and Food Safety*, 163-164 pp.
- Belay, Z. A., Caleb, O. J., Opara, U. L., 2017, Impacts Of Low And Super-Atmospheric Oxygen Concentrations On Quality Attributes, Phytonutrient Content And Volatile Compounds Of Minimally Processed Pomegranate Arils (cv. Wonderful), *Postharvest Biology and Technology*, 124, 119–127.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C., 1995, Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie/ Food Science and Technology*, 28, 25-30 pp.
- Bree, I.V., Baetens, J.M., Samapundo, S., Devlieghere, F., Laleman, R., Vandekinderen, I., Noseda, B., Xhaferi, R., Baets, B., Meulenaer, B., 2012, Modelling the degradation kinetics of vitamin C in fruit juice in relation to the initial headspace oxygen concentration, *Food Chemistry*, 134, 207-214.
- Brody, A.L., 2005, What’s fresh about fresh-cut. *Food Technology* 59 (1), 74–77.
- Bruinsma, J., 1963, The quantitative analysis of chlorophylls a and b in plant extracts, *Photochemistry Photobiology* 2: 241-249 pp.
- Cao, J., Li, X., Wu, K., Jiang, W., Qu, G., 2015, Preparation of a novel PdCl<sub>2</sub>–CuSO<sub>4</sub>–based ethylene scavenger supported by acidified activated carbon powder and its effects on quality and ethylene metabolism of broccoli during shelf-life, *Postharvest Biology and Technology* 99, 50-57 pp.
- Cerit, İ., Demirkol, O., 2020, Effects of modified atmosphere packaging conditions and ethylene absorber on the quality of red bell pepper, *Journal of Food and Nutrition Research*, 59, 35-43 pp.
- Chandra, D.; Lee, J.S.; Hong, Y.P.; Park, M.H.; Choi, A.J.; Kim, J.G., 2019 Short-term application of CO<sub>2</sub> gas: Effects on physicochemical, microbial, and sensory qualities of “Charlotte” strawberry during storage. *J. Food Saf.*, 39, e12597.
- Chen, Y., Chen, L., Shaw, J., 2008, Senescence-associated genes in harvested broccoli florets, *Plant Science*, 175, 137–144 pp.
- Cocci, E., Rocculi, P., Romani, S., Rosa, M.D., 2006, Changes in nutritional properties of minimally processed apples during storage, *Postharvest Biology and Technology*, 39, 265-271
- Conte, A., Conversa, G., Scrocco, C., Brescia, I., Laverse, J., Elia, A., Del Nobile, M.A., 2008, Influence of growing periods on the quality of baby spinach leaves at harvest and during storage as minimally processed produce, *Postharvest Biology and Technology* 50, 190–196 pp.
- Corbo, M.R., Del Nobile, M.A., Sinigaglia, M., 2006, A novel approach for calculating shelf life of minimally processed vegetables, *International Journal of Food Microbiology*, 106, 69-73 pp.
- Del Caro, A., Piga, A., Pinna, I., Fenu, P.M., Agabbio, M., 2004, Effect of drying conditions and storage period on polyphenolic content, antioxidant capacity and ascorbic acid of prunes, *Journal Agriculture Food Chemistry*, 52(15), 4780-4784 pp.
- Esturk, O., Ayhan, Z., Gokkurt, T., 2014, Production and application of active packaging film with ethylene adsorber to increase the shelf life of broccoli (*Brassica oleracea* L. var. Italica), *Packaging Technology And Science*, 27, 179-191 pp.
- Fante, C.A, Boas, A.C.V., Parva, V.A., Pires, C.R.F., De Oliveira Lima, L.C., 2014, Modified atmosphere efficiency in the quality maintenance of Eva apples, *Food Science and Technologie* 34(2): 309-314 pp.

- Fata, N.A., Georgéa, S., Dlalaha, N., Renard, C.M.G.C., 2018, Influence of partial pressure of oxygen on ascorbic acid degradation at canning temperature, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 49, 215-221 pp.
- Gil, M.I., Tomas-Barberan, F.A., Hess-Pierce, B., Holcroft, M.D., Kader, A.A., 2000, Antioxidant Activity of Pomegranate Juice and Its Relationship with Phenolic Composition and Processing, *Journal Agriculture Food Chemistry*, 48, 4581-4589 pp.
- González, J., Ferrer, A., Oria, R., Salvador, M. L., 2008, Determination of O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> transmission rates through microperforated films for modified atmosphere packaging of fresh fruits and vegetables, *Journal of Food Engineering*, 86, No. 2, 194-201 pp.
- Hışıl, Y., 2004, Enstrümental gıda analizleri laboratuvar deneyleri. Ege Üniv.Müh.Fak. Ders Kitapları Yayın No:45, Ege Üniv.Basımevi Bornova, İzmir, 39s.
- Hu, B., Suna, D.W., Pu, H., Weia, Q., 2019, Recent advances in detecting and regulating ethylene concentrations for shelf-life extension and maturity control of fruit: A review, *Trends in Food Science & Technology*, 91, 66-82 pp.
- Hussein, Z., Caleb, O. J., Jacobs, K., Manley, M., Opara, U. L., 2015, Effect of perforation-mediated modified atmosphere packaging and storage duration on physicochemical properties and microbial quality of fresh minimally processed 'Acco' pomegranate arils, *Food Science and Technology*, 64, 911–918 pp.
- Isabelle, M., Lee, B.L., Lim, M.T., Koh, W.P., Huang, D., Ong, C.N., 2010, Antioxidant activity and profiles of common fruits in Singapore, *Food Chemistry*, 123, 77–84.
- Izumi, H., Nonaka, T., Muraoka, T., 1997, Physiology And Quality Offresh-Cut Spinach Stored In Low O<sub>2</sub> Controlled Atmospheres At Various Temperatures, *Postharvest Horticultural Series*, Ed;University of California, Davis, 19, 130-133 pp.
- Jacxsens, L., Devlieghere, F., Van der Stehen, C., Debevere, J., 2001, Effect of high oxygen modified atmosphere packaging on microbial growth and sensorial qualities of fresh-cut produce, *International Journal of Food Microbiology*, 71, 197-210 pp.
- Jacxsens, L., Devlieghere, F., Debevere, J., 2002, Predictive modeling for packaging design: equilibrium modified atmosphere packages of fresh cut vegetables subjected to a simulated distribution chain, *International Journal of Food Microbiology*, 73, 331–341 pp.
- Kader, A. A., 1980, Prevention of ripening in fruits by use of controlled atmospheres. *Food Technology*, 34, 50-54.
- Kader, A.A., 1987, Respiration of gas exchange of vegetables. In: Weichmann, J. (Ed.), *Postharvest Physiology of Vegetables*. Marcel Dekker, New York, USA, 25–43p
- Kader, A.A Zagory, D., Kerbel, E.L., 1989, Modified Atmosphere packaging of fruits and vegetables. *Food Science and Nutrition*, 28 pp.
- Kader, A.A., Watkins, C.B., 2000, Modified Atmosphere packaging toward 2000 and beyond, *Journal of HorTechnology*, 10 (3), 483-486 pp.
- Kader, A.A., 2002, *Post-harvest technology of horticultural crops*. Oakland: University of California, *Division of Agriculture and Natural Resources Publication* 3311, 535 pp.
- Kou, L., Luo, Y., Park, E., Turner, E.R., Barczak, A., Jurick, W.M., 2014, Temperature abuse timing affects the rate of quality deterioration ofcommercially packaged ready-to-eat baby spinach. Part I: Sensoryanalysis and selected quality attributes, *Postharvest Biology and Technology*, 91, 96–103 pp.
- Larsen, H., Liland, K. H., 2013, Determination of O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> transmission rate of whole packages and single perforations in micro-perforated packages for fruit and vegetables, *Journal of Food Engineering*, 119, 271– 276 pp.

- Li, W.L., Li, X.H., Fan, X., Tang, Y., Yun, J., 2012, Response of antioxidant activity and sensory quality in fresh-cut pear as affected by high O<sub>2</sub> active packaging in comparison with low O<sub>2</sub> packaging, *Food Science and Technology International*, 18(3) 197–205.
- Mariah, M.A.A.; Vonnie, J.M.; Erna, K.H.; Nur'Aqilah, N.M.; Huda, N.; Abdul Wahab, R.; Rovina, K., 2022, The Emergence and Impact of Ethylene Scavengers Techniques in Delaying the Ripening of Fruits and Vegetables, *Membranes*, 12, 117.
- Martin-Diana, A. B., Rico, D., Mulcahy, J., Fri'as, J., Henehan, G. T. M., Barry-Ryan, C., 2006, Whey permeate as bio-preservative for shelf-life maintenance of fresh-cut vegetables, *Innovative Food Science and Technologies*, 7, 112-123 pp.
- Medina, M.S., Tudela, J.A., Marin, A., Allende, A., Gil, M.I., 2012, Short postharvest storage under low relative humidity improves quality and shelf life of minimally processed baby spinach (*Spinacia oleracea* L.), *Postharvest Biology and Technology*, 67, 1–9 pp.
- Moradinezhad, F., Dorostkar, M., 2021, Effect of Vacuum and Modified Atmosphere Packaging on the Quality Attributes and Sensory Evaluation of Fresh Jujube Fruit, *International Journal of Fruit Science*, 21:1, 82-94
- Murmu, S.B., Mishra, H.N., 2018, Selection of the best active modified atmosphere packaging with ethylene and moisture scavengers to maintain quality of guava during lowtemperature storage, *Food Chemistry*, 253, 55-62
- Odumeru, J. A., Mitchell, S. J., Alves, D. M., Lynch, J. A., Yee, A. J., Wang, S. L., Styliadis, S., Farber, J. M., 1997, Assessment of the microbiological quality of ready-to-use vegetables for the healthcare food services, *Journal of Food Protection*, 60, 945–960 pp.
- Ohlsson, T., 1994, Minimal processing and preservation methods of the future: an overview, *Trends in Food Science and Technology*, 5(11), 341-344 pp.
- Oms-Oliu, G., Raybaudi-Massilia Martínez, R.M., Soliva-Fortuny, R., Martín-Belloso, O., 2008, Effect of superatmospheric and low oxygen modified atmospheres on shelf-life extension of fresh-cut melon, *Food Control*, 19, 191–199 pp.
- Pandurangi, S., Laborde, L.F., 2004, Retention of Folate, Carotenoids, and Other Quality Characteristics in Commercially Packaged Fresh Spinach, *Food Chemistry and Toxicology*, 69 (9).
- Pekyardımcı, Ş., 1992, Polifenol Oksidaz Enzimi ve Esmerleşme Reaksiyonlarının Gıda Endüstrisi Uygulamaları, *Gıda*, 3, 181-186 pp.
- Pennington, J.A.T., Fisher, R.A., 2009, Classification of fruits and vegetables, *Journal of Food Composition and Analysis*, 22, 23-32 pp.
- Preetha, P., Varadharaju, N., Vennila, P., 2015, Enhancing the shelf life of fresh-cut bitter melon using modified atmospheric packaging, *African Journal of Agricultural Research*, 10(17), 1943-1951.
- Ramos, B., Miller, F.A., Brandão, T.R.S., Teixeira, P., Silva, C.L.M., 2013, Fresh fruits and vegetables—An overview on applied methodologies to improve its quality and safety, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, (in press)
- Saltevit, M.E., 2000, Wound induced changes in phenolic metabolism and tissue browning are altered by heat shock, *Postharvest Biology and Technology*, 21, 61-69 pp.
- Sanchez-Ballesta, M.T.; Romero, I.; Jiménez, J.B.; Orea, J.M.; González-Ureña, Á.; Escribano, M.I.; Merodio, C., 2007 Involvement of the phenylpropanoid pathway in the response of table grapes to low temperature and high CO<sub>2</sub> levels. *Postharvest Biol. Technol.*, 46, 29–35.
- Sheikhi, A., Mirdehghan, S.H., Karimi, H.R., Ferguson, L., 2019, Effects of Passive- and Active-Modified Atmosphere Packaging on Physio-Chemical and Quality Attributes of Fresh In-Hull Pistachios (*Pistacia vera* L. cv. Badami), *Foods*, 8(11), 564.

- Shivanskara, K.S., Isobe, S., Al-Hao, M.I., Takenaka, M., Shina, T., 2004, Fruit Antioxidant Activity, Ascorbic Acid, Total Phenol, Quercetin and Carotene of Irwin Mango Fruits Stored at Low Temperature after High Electric Field Pretreatment, *Journal Agriculture Food Chemistry*, 52, 1281-1286 pp.
- Soliva-Fortuny, R.C., Martín-Belloso, O., 2003, Microbiological and biochemical changes in minimally processed fresh-cut conference pears, *Food Research Technology*, 217, 4-9 pp.
- Soliva-Fortuny, R.C., Elen-Martinez, P., Martín-Belloso, O., 2004, Microbiological and biochemical stability of fresh-cut apples preserved by modified atmosphere packaging, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 5, 215-224 pp.
- Tilahun, S., Lee, Y.M., Choi, H.R., Baek, M.W., Lee, J., Park, D.S., Kang, H., Jeong, C.S., 2021, Modified atmosphere packaging combined with CO<sub>2</sub> and 1-methylcyclopropene prolong the storability and maintain antioxidant properties of cherry tomato, *Scientia Horticulturae*, 288, 110401.
- Toivonen, P., Walsh, J., Loughheed, E.C., Murr, D.P., 1982, Ethylene relationships in storage of some vegetables, *In Controlled Atmospheres for Storage and Transport of Perishable Agricultural Commodities*, (Ed.) D.G. Richardson and M. Meheriuk, p. 299. Timber Press, Beaverton, Org.
- Torales, A.C., Gutiérrez, D.R., Rodríguez, S.C., 2020, Influence of passive and active modified atmosphere packaging on yellowing and chlorophyll degrading enzymes activity in fresh-cut rocket leaves, *Food Packaging and Shelf Life*, 26, 100569.
- Trappey, C.V., Wu, H-Y., 2008, An evaluation of the time-varying extended logistic, simple logistic, and Gompertz models for forecasting short product lifecycles, *Advanced Engineering Informatics* 22, 421-430 pp.
- Üçüncü, M., 2007, Biyobozunur Ambalaj Materyalleri. In "Gıda Ambalajlama Teknolojisi", ed.by M. Üçüncü. İzmir: Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri
- Üçüncü, M., 2011, Gıda Ambalajlama Teknolojisi, 18: 789 s.
- Vermeiren, L., Devlieghere, F., Van Beest, M., De Kruijf, N., Debevere, J., 1999, Developments in the active packaging of foods, *Trends in Food Science and Technology*, 10: 77-86 pp.
- Wang, L., Luo, Z.S., Li, J.H., Yang, M.Y., Yan, J.W., Lu, H.Y., Li, D., Chen, C.K., Aghdam, M.S., Wu B., 2019 Morphological and quality characterization of grape berry and rachis in response to postharvest 1-methylcyclopropene and elevated oxygen and carbon dioxide atmospheres. *Postharvest Biol. Technol.*, 153, 107-117 pp.
- Wang, L.X., Choi, I.L., Kang, H.M., 2020, Effect of High CO<sub>2</sub> Treatment and MA Packaging on Sensory Quality and Physiological-Biochemical Characteristics of Green Asparagus (*Asparagus officinalis* L.) during Postharvest Storage, *Horticulturae*, 6, 84 pp.
- Yılmaz, L., Elmacı, Y., 2018, Polifenol Oksidaz Enzimi ve İnaktivasyon Yöntemleri, *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 6(3), 333-345 pp.
- Xu, B.J., Chang, S.K.C., 2007, A Comparative Study on Phenolic Profiles and Antioxidant Activities of Legumes as Affected by Extraction Solvents, *Journal of Food Science*, 72, 159-166 pp.



## NUTRIENT COMPOSITION AND *IN VITRO* RUMINAL FERMENTATION OF CROWN VETCH FORAGE

*Kanber Kara*<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Department of Animal Nutrition and Nutritional Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University, Kayseri, Türkiye*

### ABSTRACT

Crown vetch (*Coronilla varia* L.) is a widely spread legume species that can be used as a forage crop for herbivores. The crown vetch herbage was ensiled with 0, 4, or 8% of crushed barley grain on a wet basis. The crude protein (CP) and neutral detergent fiber in organic matter (NDFom) contents of crown vetch herbage was higher than those of crown vetch silages ( $p < 0.05$ ). The malondialdehyde (MDA) concentrations of herbage and silages with barley grain, were lower than that of silage without barley grain ( $p < 0.05$ ). The linoleic acid (C18:2) percentage of total fatty acids in forage decreased with the ensiling process ( $p < 0.05$ ). The use of crushed barley grain (4% and 8% rates) in the ensiling process of crown vetch herbage preserved the  $\alpha$ -linolenic acid (C18:3) percentage of total fatty acids ( $p < 0.05$ ). The crushed barley grain positively affected dry matter (DM) and ammonia-nitrogen levels, acidity value (pH and lactic, acetic and propionic acids) and *in vitro* ruminal fermentation values (cumulative gas production, metabolic energy (ME), net energy lactation (NEL) and organic matter digestion (OMd)) of crown vetch silage ( $p < 0.05$ ). The concentration of volatile fatty acids (acetic, butyric, propionic, *iso*-valeric and *iso*-butyric acids) in the *in vitro* ruminal fermentation fluid was similar in herbage and silages of crown vetch ( $p > 0.05$ ). Consequently, crushed barley grain (especially 4% rate) in the ensiling process of crown vetch increased hemicellulose, easily digestible carbohydrates, linoleic acid,  $\alpha$ -linolenic acid in silage and *in vitro* ruminal digestion parameters, positively affected silage acidity and decreased lipid peroxidation.

**Keywords:** Crown vetch, fatty acids, *in vitro* ruminal fermentation, lipid peroxidation, silage.

### Introduction

Forage legume plants have high crude protein (CP) content and high potential to overcome this limitation during grazing in a pasture. Due to its high CP content, it ensures that the concentrated feed is used less. It also has sufficient neutral detergent fiber (NDF) content for ideal rumen fermentation for herbivores. In addition, in terms of mineral content, they are the preferred forage for ruminants during lactation and growing. Crown vetch (*Coronilla varia* L.), which is a vetch specie, is resistant to low ambient temperature (down to  $-33^{\circ}\text{C}$ ), different soil types (can tolerate low pH soils, but ideal  $\geq\text{pH } 6$ ), and drought. This vetch species naturally grows in meadow-pasture areas of Europe and Anatolia. Crown vetch gets its name from its regular vetch-shaped leaves and the crown-like arrangement of white-purple flowers during flowering. Earlier researchers determined that crown vetch hay is consumed eagerly by heifers and provides a better body weight gain than alfalfa hay (Bruns et al., 1972). However, after this early, there has not been enough work on the ruminal fermentation of this plant and the changes in the nutritional composition of its silage. The study's hypothesis is that crown vetch herbage can be ensiling like other legumes, and quality silage fermentation and silage material can be obtained (Améndola-Massiotti et al., 2018). This study aimed to research the chemical composition of crown vetch herbage at the early flowering stage and silage without crushed barley grain or crushed barley grain of crown vetch at the early flowering stage.

### Materials and Methods

The samples of crown vetch were collected from Central Anatolia Region (Kayseri province) of Turkey. Crown vetch (*Coronilla varia* L.) herbage has been collected from over about 1 cm of the land from the natural pasture using a random sampling method. The crown vetch was harvested at the early flowering stage ( $n = 8$ ) and included all aerial parts (leaf, stem, or bud-flower). Eight samples of crown vetch

herbage were collected from four different areas. The cutted crown vetch herbage was ensiled with 0% (Coronilla silage without crushed barley grain: CS), 4% (Coronilla silage with 4% crushed barley grain: CSb4) and 8% (Coronilla silage with 8% crushed barley grain: CSb8). The about 500 g herbage of crown vetch was ensiled with a vacuum machine in a polyethylene silage bag and mixed (n=5) for 60 days.

Dried herbage samples were ground in a laboratory-type mill (IKA Werke, Germany) with a diameter of 1 mm. Diethyl ether extract (EE), crude protein (CP) (nitrogen x 6.25) and ash compositions of grounded samples were analyzed according to the AOAC (1995). The levels of neutral detergent fiber without ash content and acid detergent fiber were analysed according to Van-Soest et al. (1991) (NDFom and ADFom, respectively). The spectrophotometric method determined Thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) in samples (Botsoglou et al., 1994). The total fat content was methylated with the three-stage modified procedure of Wang et al. (2015). The percentages of individual fatty acid methyl esters (FAME's) in total fatty acid methyl esters were detected in a gas chromatograph (GC-FID, Thermo Scientific, USA) (Kara, 2020).

The ammonia-nitrogen concentration in crown vetch silage fluid was determined using a commercial ammonia-nitrogen assay procedure (Megazyme, Ireland). The pH value of the filtered mixture was determined with a digital pH meter (Mettler Toledo, S220 pH/ion meter, USA). The lactic acid (LA) content in silage fluid was determined according to a modified spectrophotometric method (Tekin and Kara, 2020) by Barnett (1951). The concentrations ( $\text{mmol L}^{-1}$ ) of short chain organic acids in silage fluid was identified in a GC-FID device (Thermo Trace 1300, USA) with a polyethylene-glycol-based phase column (Ersahince and Kara, 2017).

In vitro ruminal fermentation variables of dried samples were analyzed using an *in vitro* gas production technique. The forage samples were incubated in calibrated anaerobic glass fermenter (Model Fortuna, Germany) with rumen fluid inoculum and buffer mixture (Menke et al., 1979) at  $39\pm 0.5^\circ\text{C}$  in an incubator for 72 h. The estimated metabolic energy (ME) and organic matter digestion (OMd) values of crown vetch samples were calculated via the formulas using produced net total gas volume and chemical composition values of these forage samples. Ammonia-nitrogen concentration in the *in vitro* fermentation fluid was determined with a commercial ammonia assay (Megazyme, K-AMIAR 02/20, Wicklow, Ireland). The pH values of samples were detected with a digital pH meter (Mettler Toledo, S220 pH/ion meter, Ohio, USA). The concentrations ( $\text{mmol L}^{-1}$ ) of short-chain organic acids (or volatile fatty acids - VFA's) in fermentation fluid was identified in a GC-FID device (Thermo Trace 1300, Thermo Scientific, USA) (Ersahince and Kara, 2017). One one-way variance analysis analyzed the statistical significance among chemical compositions and in vitro fermentation variables of crown vetch herbage and silages. Tukey's multiple comparison test separated the means of variables at  $p < 0.05$ .

## Results

The CP and NDFom contents of CH were greater than those of CS, CSb4 and CSb8 silages ( $p < 0.05$ ). The CP contents of crown vetch silages with barley grain were like silage without barley grain ( $p > 0.05$ ). The NDFom content of CSb4 was greater than those of CS and CSb8 silages ( $p < 0.05$ ). The ADFom and cellulose contents of CH were similar to those of CS silage ( $p > 0.05$ ); but greater than those of CSb4 and CSb8 silages ( $p < 0.05$ ). The hemicellulose contents of CSb4 and CSb8 silages were the same ( $p > 0.05$ ). The NFC content of CH was lower than those of CS, CSb4 and CSb8 silages ( $p < 0.05$ ). The MDA content of CH herbage was lower than that of CS silage ( $p < 0.05$ ). The MDA contents of CSb4 and CSb8 silages were lower than that of CS silage and CH herbage ( $p < 0.05$ ). The oleic acid percentage (%) of total fatty acids of CH herbage was higher than that of CS silage ( $p < 0.05$ ); but similar to those of CSb4 and CSb8 silages ( $p < 0.05$ ). The linoleic acid percentage of total fatty acids of CH herbage was lower than those of CS, CSb4 and CSb8 silages ( $p < 0.05$ ). The alpha-linolenic acid percentage of total fatty acids of CH herbage was lower than that of CSb4 silage ( $p < 0.05$ ).

The silage pH value in the fluid of CS silage was greater than those of CSb4 and CSb8 silages ( $p < 0.05$ ). Lactic acid, acetic acid and propionic acid contents in DM of CS silage were lower than those of CSb4 and CSb8 silages ( $p < 0.05$ ). The ammonia-N concentration in CS silage was lower than in CSb4 and CSb8 silages ( $p < 0.05$ ). (Table 3).

The *in vitro* total gas production of crown vetch herbage at 3 h of incubation was like those of crown vetch silages ( $p > 0.05$ ). The *in vitro* total gas productions of CH herbage at 6-72 hours of *in vitro*

incubation were lower than those of CSb4 and CSb8 silages ( $p < 0.05$ ). The *in vitro* total gas productions of CS at 24-72 hours of *in vitro* incubation were lower than those of CSb4 and CSb8 silages ( $p < 0.05$ ) (Table 4). The *in vitro* ME, NEL and OMD values and cumulative gas production (3-36 hours) of CH herbage were similar to those of CS silage ( $p > 0.05$ ). The *in vitro* ME, NEL and OMD values of CSb4 and CSb8 silages were greater than CH herbage and CS silage ( $p < 0.05$ ). The AA % in TVFA of *in vitro* ruminal fermentation fluid was the same for CH and CS ( $p > 0.05$ ), but AA % in TVFA of *in vitro* ruminal fermentation fluid of CH herbage and CS silage were higher than those of CSb4 and CSb8 silages ( $p < 0.05$ ). The BA % in TVFA of *in vitro* ruminal fermentation fluid of CH herbage and CS silage were lower than CSb4 and CSb8 silages ( $p < 0.05$ ).

### Discussion

The ash, EE, NDF and ADF contents of crown vetch herbage paralleled with the results of Kaya (2021). The CP content of crown vetch herbage decreased with ensiling of crown vetch herbage. The 18.34% CP of CH herbage in the present study was the expected level for legume forages. Hemicellulose losses of crown vetch silage inhibited with crushed barley grain supplementation may relate to the hemicellulose content of barley grain (NRC, 2001). Lipid oxidation levels of forage plants depend on the forage plants' lipoxygenases activity, which increases with plant maturing and phenological stage stages or after plant' cell damage (Han and Zhou, 2013). Oxidation refers to a series of free radicals' reactions conducted in unsaturated fatty acids and has been widely used to indicate plant cell oxidative damage (DaCosta and Huang 2007; Talbi et al. 2015). The MDA reflects lipid oxidation in plant cells and external stress (ensilaging or hay making) (Thompson et al. 1998). In the present study, the MDA concentration of crown vetch forage increased up to about 40% ratio with silage making (without barley grain) according to crown vetch' herbage. In the present study, alpha-linolenic acid was the fatty acid at the highest concentration of crown vetch herbage. The use of crushed barley grain in silage-making also inhibits the oxidation of n-3 and n-6 fatty acids by reducing the MDA concentration. The primary fatty acids of green forages are n-3 alpha-linolenic acid (Lopez et al., 2005). The high alpha-linolenic acid (C18:3, n3) and linoleic acid (C18:2, n6) concentrations of crown vetch silages with barley (especially CSb4) in the present study have shown that using barley grain at silage making to maintain the levels of alpha-linolenic and linoleic acids can be a positive effect for the healthy continuation of pregnancy in the dairy cow.

The crushed barley grain supplementation to crown vetch herbage at ensiling stage decreased silage pH value. Increased silage lactic acid content can stimulate the fermentation of easily digestible carbohydrates (mainly starch substances) in barley grain (Tekin and Kara, 2020). The pH value of ensiled forage is a measure of its acidity for ideal silage fermentation. Whole-plant corn and alfalfa have pH levels that range from about 5.5 to 6 immediately after chopping (Kung et al., 2018). The AA is the organic-volatile acid, found in the second-highest concentration in silage. Similar to lactic acid, the concentration of acetic acid is usually inversely related to DM content. Moderate concentrations of acetic acid in silage can be beneficial because they inhibit yeasts, resulting in improved stability when silage is exposed to air. The ratios of lactic acid to acetic acid for CS, CSb4 and CSb8 silages were 1.98, 3.35 and 3.53, respectively. These results show that ideal silage acidity values for crown vetch silages can be achieved using 4% and 6% barley.

The increase in the volume of gas produced in the *in vitro* gas production technique indicates that the digestibility of carbohydrates is equally high (Kara, 2015). In the present study, the high *in vitro* total gas production and estimated digestion values (ME, NEL and OMD) of crown vetch silages with barley grain can relate to stimulating of digestible carbohydrates in barley grain. Considering the *in vitro* gas production, energy and OMD levels of the crown vetch's herbage and silages examined in the study, it could be said that they were at a reasonable level as a legume forage. It can be noted that the presence of barley grain in silage fermentation has a positive effect on *in vitro* digestion levels and increases the energy level and biogas production. Although CP contents in silages and herbage of crown vetch differed, there was no difference in ruminal ammonia-N concentrations in the *in vitro* ruminal fermentation. This may be related to the increase in the NFC contents with the addition of barley and ammonia in the ruminal environment in microbial protein production. The *in vitro* ruminal pH, TVFA, AA, PA and IVA contents of crown vetch's herbage and silages may be caused by having sufficient hemicellulose and NFC levels in materials.

As a result, the addition of crushed barley grain in the ensiling process of crown vetch herbage concluded that decreased lipid peroxidation; and positively influenced the acidity in silage (decreased pH and increased lactic acid level), essential fatty acids of silage (alpha-linolenic acid, PUFA, n-3 and n-6 fatty acids) and *in vitro* ruminal gas production and estimated digestion values. It was concluded that barley grain used for ensiling crown vetch in field applications is suitable, since it has a nutritional content close to crown vetch herbage.

## References

- A.O.A.C. Official Methods of Analysis (15th ed.). Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA. 1995.
- Améndola-Massioti, R. D., González-Ortiz, R., Miranda-Romero, L. A., Burgueño-Ferreira, J. A., & Topete-Pelayo, P. (2018). Ensiling Alfalfa (*Medicago sativa* L.) and Orchard Grass (*Dactylis glomerata* L.) forage harvested at 08:00 or 14:00, without wilting or 1 or 2 h wilting and with or without use of bacterial inoculant, IntechOpen.
- Barnett, A. J. (1951). The colorimetric determination of lactic acid in silage. [Biochemistry Journal](#), 49, 527-529.
- Botsoglou, N. A., Fletouris, D. J., Papageorgious, G. E., Vassilopoulos, V. N., Mantis, A. J., & Trakatellis, A. G. (1994). Rapid, sensitive, and specific thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in animal tissue, food, and feedstuff samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 1931-1937.
- Burns, J. C., Mochrie, R. D., & Cope, W. A. 1972. Responses of dairy heifers to crown vetch, sericea lespedeza, and alfalfa forages. *Agronomy Journal*, 64, 193-195.
- DaCosta, M., & Huang, B. (2007). Changes in antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation for bentgrass species in response to drought stress. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 132, 319-326.
- Ersahince, A. C., & Kara, K. (2017). Nutrient composition and *in vitro* digestion parameters of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) herbage at different maturity stages in horse and ruminant. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 26, 213-225.
- Han, L., & Zhou, H. (2013). Effects of ensiling processes and antioxidants on fatty acid concentrations and compositions in corn silages. *Journal of Animal Science Biotechnology*, 4, 48.
- Kara, K. (2020). Milk urea nitrogen and milk fatty acid compositions in dairy cows with subacute ruminal acidosis. *Veterinarni Medicina-Czech*, 65, 336-345.
- Kara, K. (2015). *In vitro* methane production and quality of corn silage treated with maleic acid. *Italian Journal of Animal Science*, 14, 718-722.
- Kaya, E. (2020). The effect of species on nutritive value and anti-methanogenic potential of vetch hays grown in native pasture in Turkey. *Progress in Nutrition*, 23, e2021049
- Kung, L., Shaver, R. D., Grant, R. J., & Schmidt, R. J. (2018). Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages. *Journal of Dairy Science*, 101, 4020-4033.
- Lopez, H., Caraviello, D., Satter, L., Fricke, P., & Wiltbank, M. (2005). Relationship between level of milk production and multiple ovulations in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 88, 2783-2793.
- Menke, K. H., Raab, L., Salewski, A., & Steingass, H. (1979). The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor. *Journal of Agriculture Science*, 93, 217-222.
- N.R.C. (2001). Nutrient Requirements of Dairy Cattle. National Research Council. 7th Revised Edition. National Academy Press, Washington, DC, USA.

Tekin, M., & Kara, K. (2020). The forage quality and the in vitro ruminal digestibility, gas production, organic acids, and some estimated digestion parameters of tomato herbage silage with molasses and barley. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 44, 201-213.

Thompson, J. E., Froese, C. D., Madey, E., Smith, M. D. & Hong, Y. (1998). Lipid metabolism during plant senescence. *Progress in Lipid Research*, 37, 119–141.

Van-Soest, P. J., Robertson, J. B., & Lewis, B. A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non- starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74, 3583-3597.

Wang, J., Wu, W., Wang, X., Wang, M., & Wu, F. (2015). An affective GC method for the determination of the fatty acid composition in silkworm pupae oil using a two-step methylation process. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 80, 9-20.

**5. INTERNATIONAL FOOD, AGRICULTURE AND VETERINARY SCIENCES CONGRESS**  
**17 - 19 February 2023, Turkiye**  
**Kafkas University, Kars**

**TABLE 1** The chemical compositions of herbage and silages with crushed barley grain of crown vetch (*Coronilla varia* L.)

	CP	NDFom	ADFom	ADL	Cel	HC	NFC	EE	Ash	MDA
CH	18.34	45.64	36.24	8.57	27.66	9.40	25.95	1.92	8.12	523.53
CS	16.99	38.94	33.75	10.96	22.78	5.18	34.79	1.95	7.33	697.25
CSb4	15.64	41.14	31.56	14.42	17.13	9.58	34.21	2.18	6.81	300.36
CSb8	15.69	34.45	25.18	13.49	11.68	9.28	41.64	1.81	6.39	384.64
SD	1.26	4.32	4.44	2.85	6.55	2.01	5.96	0.23	0.72	54.10
SEM	0.44	1.52	1.57	1.01	2.31	0.70	2.10	0.08	0.25	22.73
Multiple Comparisons (Tukey) <i>p</i> values										
CH x CS	0.027	<0.001	0.186	0.651	0.172	0.006	0.001	0.999	0.167	0.046
CH x CSb4	0.031	0.002	0.028	0.128	0.016	0.987	0.001	0.749	0.038	0.030
CH x CSb8	0.033	<0.001	0.001	0.200	0.003	0.995	<0.001	0.967	0.014	0.024
CS x CSb4	0.227	0.031	0.249	0.407	0.116	0.005	0.815	0.801	0.413	0.016
CS x CSb8	0.231	0.002	0.003	0.618	0.013	0.006	0.002	0.941	0.107	0.014
CSb4 x CSb8	0.990	<0.001	0.009	0.961	0.129	0.943	0.001	0.529	0.544	0.909

CH: Coronilla herbage. CS: Coronilla silage. CSb4: Coronilla silage with 4% barley grain. CSb8: Coronilla silage with 8% barley grain.

SD: Standard Deviation, SEM: Standard Error of Means.

5. INTERNATIONAL FOOD, AGRICULTURE AND VETERINARY SCIENCES CONGRESS  
17 - 19 February 2023, Türkiye  
Kafkas University, Kars

**TABLE 2** The percentages (%) of fatty acids in total fatty acids of herbage and silages with crushed barley grain of crown vetch (*Coronilla varia* L.)

	Oleic acid	Linoleic acid	$\alpha$ -linolenic acid	Palmitic acid	MUFA	PUFA	n-3	n-6	n-9	MCFA	LCFA	VCLFA
CH	21.39	17.02	25.24	20.70	23.90	44.94	26.40	18.53	21.67	0.44	98.63	0.91
CS	9.06	20.16	19.30	19.47	10.44	46.80	21.29	21.75	9.30	0.93	97.37	0.98
CSb4	17.19	23.89	37.48	21.95	18.89	60.97	39.21	25.51	17.71	1.16	98.07	1.46
CSb8	14.72	28.41	27.08	20.48	16.00	57.56	28.48	29.07	15.18	0.70	98.34	0.94
SD	5.35	4.57	1.40	1.96	5.92	7.821	7.39	4.26	5.40	0.29	0.50	0.25
SEM	1.89	1.61	0.61	0.69	2.09	2.76	2.61	1.51	1.91	0.10	0.17	0.08
Multiple Comparisons (Tukey) <i>p</i> values												
CH x CS	0.041	0.035	0.040	0.114	0.074	0.140	0.044	0.045	0.064	0.017	0.009	0.907
CH x CSb4	0.607	0.002	0.004	0.201	0.591	0.004	0.474	0.003	0.654	0.004	0.000	0.018
CH x CSb8	0.301	0.000	0.935	0.119	0.292	0.046	0.912	0.001	0.329	0.130	0.076	0.989
CS x CSb4	0.194	0.020	0.016	0.301	0.253	0.020	0.017	0.027	0.187	0.189	0.004	0.027
CS x CSb8	0.405	0.001	0.048	0.900	0.522	0.005	0.092	0.002	0.392	0.170	0.105	0.982
CSb4 x CSb8	0.866	0.010	0.211	0.387	0.865	0.134	0.257	0.032	0.865	0.022	0.001	0.021

CH: Coronilla herbage. CS: Coronilla silage. CSb4: Coronilla silage with 4% barley grain. CSb8: Coronilla silage with 8% barley grain.

SD: Standard Deviation, SEM: Standard Error of Means

**5. INTERNATIONAL FOOD, AGRICULTURE AND VETERINARY SCIENCES CONGRESS**  
**17 - 19 February 2023, Turkiye**  
**Kafkas University, Kars**

**TABLE 3** The chemical compositions of silages with crushed barley grain of crown vetch (*Coronilla varia* L.)

	DM	pH	Ammonia-N	LA	AA	PA	HA	BA	ICA	IVA
	%		g dL <sup>-1</sup>			%, in DM				
CS	26.37	4.47	0.58	0.79	0.40	0.012	0.008	0.005	0.005	0.0018
CSb4	30.94	4.18	0.81	1.74	0.52	0.015	0.011	0.005	0.005	0.0007
CSb8	32.22	4.00	0.90	1.87	0.53	0.016	0.011	0.007	0.005	0.0006
SD	2.76	0.22	0.02	0.16	0.07	0.007	0.004	0.003	0.0001	0.008
SEM	1.12	0.09	0.01	0.09	0.02	0.004	0.001	0.001	0.0001	0.0003
Multiple Comparisons (Tukey) <i>p</i> values										
CS x CSb4	0.001	0.023	0.001	0.005	0.045	0.017	0.508	0.990	0.819	0.211
CS x CSb8	0.001	0.001	0.001	0.033	0.045	0.002	0.491	0.706	0.990	0.175
CSb4 x CSb8	0.047	0.003	0.162	0.023	0.988	0.186	0.999	0.706	0.819	0.988

CH: Coronilla herbage. CS: Coronilla silage. CSb4: Coronilla silage with 4% barley grain. CSb8: Coronilla silage with 8% barley grain.

LA: Lactic acid, AA: Acetic acid, BA: Butyric acid, PA: Propionic acid, IVA: *iso*-valeric acid, HA: Hexanoic acid; ICA: *iso*-caproic acid.



5. INTERNATIONAL FOOD, AGRICULTURE AND VETERINARY SCIENCES CONGRESS  
17 - 19 February 2023, Turkiye  
Kafkas University, Kars

**TABLE 4** The *in vitro* cumulative gas production and estimated ruminal digestion values of the herbage and silages with crushed barley grain of crown vetch (*Coronilla varia* L.)

	Estimated digestion values			<i>In vitro</i> cumulative total gas production, ml/0.2 g DM							
	ME	NEL	OMd	3h	6h	12h	18h	24h	36h	48h	72h
CH	8.47	5.03	57.83	5.95	16.33	30.04	35.17	38.01	39.86	40.19	40.19
CS	8.69	5.22	59.16	7.03	18.40	32.54	37.46	39.74	42.20	43.77	44.06
CSb4	8.79	5.33	59.96	8.03	20.47	33.84	37.75	42.04	44.76	47.25	47.85
CSb8	8.92	5.49	60.47	7.59	21.23	34.32	39.69	42.88	46.73	49.12	49.42
SD	0.29	0.14	0.87	1.18	2.24	2.43	2.04	2.40	0.80	3.75	3.86
SEM	0.08	0.07	0.54	0.34	0.64	0.70	0.59	0.69	0.46	1.08	1.12
Multiple Comparisons (Tukey) <i>p</i> values											
CH x CS	0.561	0.578	0.674	0.578	0.230	0.318	0.054	0.263	0.181	0.031	0.034
CH x CSb4	0.040	0.043	0.069	0.130	0.012	0.046	0.057	0.007	0.006	0.001	0.001
CH x CSb8	0.010	0.012	0.018	0.266	0.005	0.002	0.001	0.002	0.001	<0.001	<0.001
CS x CSb4	0.031	0.037	0.028	0.639	0.227	0.773	0.771	0.007	0.034	0.035	0.038
CS x CSb8	0.026	0.031	0.039	0.903	0.078	0.574	0.061	0.027	0.009	0.003	0.006
CSb4 x CSb8	0.758	0.772	0.774	0.949	0.865	0.983	0.016	0.770	0.289	0.316	0.528

CH: Coronilla herbage. CS: Coronilla silage. CSb4: Coronilla silage with 4% barley grain. CSb8: Coronilla silage with 8% barley grain.

5. INTERNATIONAL FOOD, AGRICULTURE AND VETERINARY SCIENCES CONGRESS  
17 - 19 February 2023, Turkiye  
Kafkas University, Kars

**TABLE 5** The ammonia-nitrogen, pH and volatile fatty acids molarities of the *in vitro* ruminal fermentation fluid of crown vetch (*Coronilla varia* L.) forages

	Ammonia-N	pH	TVFA	AA	PA	BA	IVA	IBA	OA
	mg L <sup>-1</sup>		mmol L <sup>-1</sup>				% in TFVA		
CH	78.41	6.86	78.57	69.78	15.50	8.01	3.00	1.52	2.08
CS	79.28	6.81	79.08	69.99	14.93	9.19	2.78	1.40	1.68
CSb4	78.23	6.74	81.31	68.32	15.17	10.36	2.90	1.45	1.77
CSb8	78.50	6.81	79.64	68.01	15.18	10.76	2.82	1.40	1.81
SD	1.50	0.15	3.91	0.98	0.33	1.18	0.12	0.06	0.17
SEM	0.43	0.04	1.12	0.28	0.09	0.34	0.03	0.01	0.05
Multiple Comparisons (Tukey) <i>p</i> values									
CH x CS	0.918	0.981	0.999	0.932	0.058	0.038	0.150	0.059	0.007
CH x CSb4	0.999	0.844	0.869	0.015	0.281	0.001	0.690	0.296	0.029
CH x CSb8	0.900	0.987	0.990	0.005	0.293	<0.001	0.269	0.066	0.054
CS x CSb4	0.869	0.969	0.923	0.007	0.672	0.043	0.586	0.656	0.731
CS x CSb8	0.940	0.980	0.999	0.002	0.652	0.009	0.971	0.980	0.482
CSb4 x CSb8	0.997	0.959	0.965	0.809	0.950	0.689	0.820	0.705	0.967

CH: Coronilla herbage. CS: Coronilla silage. CSb4: Coronilla silage with 4% barley grain. CSb8: Coronilla silage with 8% barley grain.

## CONCENTRATION AND PREVALENCE OF MYCOTOXIN IN EXTRUDED DRIED TYPE DOG FOODS\*,\*\*

**Kanber KARA**

*Erciyes University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Animal Nutrition and Nutritional Diseases, Kayseri, Turkey.*

\*This article published in Italian Journal of Animal Science (Kara K. (2022) Comparison of some mycotoxin concentration and prevalence in premium and economic class of adult dog foods, Italian Journal of Animal Science, 21:1, 1380- 1389, DOI: [10.1080/1828051X.2022.2117105](https://doi.org/10.1080/1828051X.2022.2117105))

\*\*This study was supported by the Research Fund of Erciyes University (Project number: THD-2022-12082) (Kayseri, Turkey).

### ABSTRACT

The aim of this study determined the concentrations of total aflatoxin, ochratoxin-A, fumonisin-B1 and zearalenone in 40 different extruded dry type from premium (or with high price) (P-food) (n=20) and economic (or with low price) (E-food) (n=20) class foods with different nutritional content. According to ingredients, lamb meal (or by products) + cereal grain (LG-food), fish meal (or by products) + cereal grain (FG-food), chicken meal (or by products) + cereal grain (CG-food), and animal by-products + grain-free (GFree-food) (with potato or tapioca) were selected equal numbers for E-food and P-foods. The fumonisin-B1 was detected in 10% of P-foods and 70% of E-foods ( $P<0.001$ ). The fumonisin-B1 concentration in GFree-food of dog was lower than those of other dog foods ( $P<0.05$ ). The highest fumonisin-B1 concentration of dog foods was in E-food of CG-food (3107 ppb in DM). The zearalenone concentration of GFree-food was lower than those of LG-food, FG-food and CG-food ( $P<0.05$ ). As a result, the total mycotoxins concentration of GFree-food (106 ppb in DM) were lower than those of other dog foods. The total mycotoxin, total aflatoxin, ochratoxin-A and fumonisin-B1 concentration of E-food were higher than those of P-foods. The highest total mycotoxin concentration was in the E-food classes of CG-food. Therefore, zearalenone concentration of P-food was higher than that of E-food.

**Keywords:** Dog food, extruded dog food, fumonisin-B1, mycotoxin, ochratoxin-A, zearalenone.

### Introduction

Mycotoxins are secondary metabolites produced by fungi especially those belonging to the genus *Aspergillus*, *Penicillium* and *Fusarium*. Mycotoxins are secondary fungal metabolites that produce toxic effects on animals and humans. Depending on classification, 300–400 mycotoxins are known to date (Agriopoulou et al. 2020; Streit et al. 2012). Not all fungi are capable of producing mycotoxins; so-called toxigenic only produce them. The most common mycotoxins in feedstuffs include aflatoxins, fumonisins, ochratoxin-A, zearalenone and trichothecene deoxynivalenol, T-2 toxin and HT-2 toxin. Mycotoxins are secondary metabolites produced by filamentous fungi that can contaminate cereal grain, often due to improper grain storage (Singh et al., 2018). Mycotoxins contaminate cereal grains worldwide and their presence in pet foods has posed a potential health threat to pet animals. Dry-pellet dog foods contain higher amounts of cereal grains than those of wet-canned dog foods. These high cereal grain content potentially can be cause to high mycotoxin levels. (Tegzes et al. 2019; Martínez-Martínez et al. 2021). The aim of this study determined the concentrations of total aflatoxin, ochratoxin-A, fumonisin-B1 and zearalenone in 40 different brand extruded dry type with different nutritional content (cereal or grain-free), which were economic and premium class foods, produced commercially for adult dogs.

## Materials and Methods

In the study, premium (or with high price) (P-food) and economic (or with low price) classes (E-food) of dry type foods, produced for adult dogs, were selected. Equal numbers of P-food and E-food were obtained as 40 different commercial dog foods according to content features: lamb meal (or by products) + cereal grain (LG-food) (n=10), fish meal (or by products) + cereal grain (FG-food) (n=10), chicken meal (or by products) + cereal grain (CG-food) (n=10) and animal by-products + grain-free (GFree-food) (with potato or tapioca) (n=10). The dog foods were not obtained from the market or veterinary clinic, but directly from large companies that sell and distribute many different dog foods from Local Company (Istanbul, Turkey). Each food sample was analyzed in triplicate for mycotoxins. The concentrations of total aflatoxin (Elabscience Biotechnology Inc., Total Aflatoxin, Catalog No: E-TO-E006, USA), zearalenone (Elabscience Biotechnology Inc., Zearalenone, Catalog No: E-TO-E002, USA), Ochratoxin-A (Elabscience Biotechnology Inc., Ochratoxin A, Catalog No: E-TO-E001, USA), Fumonisin-B1 (Elabscience Biotechnology Inc., Fumonisin FB1, Catalog No: E-TO-E020, USA) in dog foods were determined using a microplate reader ELISA Kits. The prevalence of mycotoxins in dog foods was determined by the chi-square test (SPSS 17.0). Mycotoxin concentrations in dog foods were determined by two-way analysis of variance according to food class and food content. When the significance was determined, the Tukey Multiple Range Test, one of the Multiple Comparison Tests, was applied (statistical significance level of 0.05).

## Results

Total aflatoxin was not detected in any of the Gfree-dog foods and the FG-dog foods. However, total aflatoxin was detected in 90% and 70% of CG-food and LG-food, respectively. Total aflatoxin mean was detected in 90% of the premium foods and economy class foods. The total aflatoxin concentrations of premium and economic classes of dog foods with different ingredients ranged from 0.86 ppb to 2.35 ppb in DM (P= 0.827). The total aflatoxin concentrations of premium and economic class dog foods were 1.30 ppb and 1.98 ppb in DM, respectively (P= 0.154) (Table 1).

According to the food ingredients, ochratoxin-A was detected in 10% of the LG-food, FG-food, CG-food and GFree-foods. Ochratoxin-A did not have premium class foods, but had 20% of economy class foods (P<0.05). The ochratoxin-A content of economic dog foods was higher than that of premium dog foods (P<0.05). According to the food ingredients, the fumonisin-B1 was detected in %60 of the studied LG-food. The fumonisin-B1 was detected in 40% of FG-food and GFree-food (Table 1). The fumonisin-B1 concentration of premium class dog foods (44 ppb in DM) was lower than that (847 ppb in DM) of economic class dog foods (P<0.001). The fumonisin-B1 concentration in GFree-food of dog (about 79 ppb in DM) was lower than those of other dog foods (P<0.05). The premium classes of LG-food and FG-food did not contain fumonisin-B1 mycotoxins (Table 1).

The zearalenone was detected in 10% of CG-food, 20% of LG-food, and 30% of FG-food and GFree-food. The 35% of premium dog foods and 10% of economic dog foods included the zearalenone mycotoxin (P=0.058). The economic classes of LG-food and CG-food and the premium class of FG-food did not contain the zearalenone mycotoxin. The zearalenone concentration of GFree-food (about 6 ppb in DM) was lower than those (about 87, 108 and 118 ppb in DM) of LG-food, FG-food and CG-food (P<0.05) (Table 1). The total mycotoxins (total aflatoxin + ochratoxin-A + fumonisin-B1 + zearalenone) concentration of GFree-food (106 ppb in DM) were lower than those of other dog foods (P<0.01). The highest total mycotoxin concentration was in the economic class of CG-food (Table 1).

## Discussion

Aflatoxins, ochratoxin-A, and *Fusarium* mycotoxins have been found in both raw ingredients and extruded products of pet food (Keçińska-Pacelik and Biel, 2021a and 2021b). Ochratoxin A and *Fusarium* mycotoxins including trichothecenes, zearalenone, and fumonisins may have chronic effects on the health of companion animals (Leung et al. 2006). However, the actual prevalence of mycotoxins in and the status of economic or premium class dog foods with cereal/grain or cereal-free/grain-free pet foods have been partially studied by a limited number of studies. In the present study, total aflatoxin (aflatoxin B1 + B2 + G1 and G2) has never been detected in the economic and premium classes of grain-free and fish+grain-containing dog foods, and in general, premium-class foods contain a lower concentration of total aflatoxin. High doses of total aflatoxin are associated with acute forms of

aflatoxicosis (Reis-Gomes et al., 2014). In the present study, the concentration of total aflatoxin in economy class dog foods reached up to 6.85 ppb in DM, and it was seen that the risk of chronic aflatoxicosis was higher than premium class dog foods. The total aflatoxin concentration in economy class of CG-food containing chicken meat/by-products was higher than those of other dog foods proved that there was a risk of chronic aflatoxicosis in dogs. In the current study, ochratoxin-A has not been detected in any of the premium class foods and its prevalence is low (4% for 40 dog food brand). The value in which ochratoxin-A was detected at the maximum concentration (358 ppb in DM) was in the foods containing grain + fish. Ochratoxin-A and total aflatoxin were present in dry type dog foods at a lower concentration than the other mycotoxins studied. In the presented study, it was determined that the mycotoxins produced by *Fusarium* fungus were the highest rate of mycotoxins, and this result was similar to the previous study data (Bissoqui et al. 2016). The highest concentrations of fumonisin-B<sub>1</sub> and zearalenone in dog foods in the present study, were 3107 ppb (in economic class CG-food) and 864 ppb (in premium class LG-food), respectively. The maximum concentrations of fumonisin-B<sub>1</sub> of the researched premium and economic dog foods were 506 and 3107 ppb in DM. Previous a study showed that the highest concentrations of fumonisin-B<sub>1</sub> and zearalenone were 74.83 and 45.84 ng/g, respectively (Witaszak et al. 2019). Witaszak et al. (2020) stated that mycotoxins in both cat and dog food samples from Polish market were detected in the amounts ranging from 0.3-30.3, and 12.3-53.0 ng/g for zearalenone, and fumonisin-B<sub>1</sub>, respectively. In the current study, in terms of fumonisin-B<sub>1</sub> mycotoxin, premium class dog foods and grain-free dog foods were determined to have lower content. However, none of the first-class grain-free dog food and the first-class fish+cereal food contained fumonisin-B<sub>1</sub>.

As a result, grain-free dog foods contain very low concentrations of fumonisin-B<sub>1</sub> and zearalenone mycotoxins, while premium dog foods contain none. Premium class foods contain Fumonisin-B<sub>1</sub> at lower concentrations than economic classes. Ochratoxin-A has not been detected in any of the premium class foods and its prevalence is low. Interestingly, economy-class foods contain zearalenone mycotoxin at a lower concentration than premium-class dog foods. Total aflatoxin has never been detected in the economic and premium classes of grain-free and fish+grain containing foods, and in general, premium-class foods contain a lower concentration of total aflatoxin.

## References

- Agriopoulou S, Stamatelopoulou E, Varzakas T. 2020. Advances in occurrence, importance, and mycotoxin control strategies: prevention and detoxification in foods. *Foods*. 9, 137.
- Streit E, Schatzmayr G, Tassis P, Tzika E, Marin D, Taranu I, Tabuc C, Nicolau A, Aprodu I, Puel O, Oswald IP. 2012. Current situation of mycotoxin contamination and co-occurrence in animal feed—focus on Europe. *Toxins (Basel)*. 4:788–809.
- Singh SD, Sheik Abdul N, Phulukdaree A, Tiloke C, Nagiah S, Baijnath S, Chuturgoon AA. 2018. Toxicity assessment of mycotoxins extracted from contaminated commercial dog pelleted feed on canine blood mononuclear cells. *Food Chem Toxicol*. 114:112-118.
- Tegzes JH, Oakleya BB, Brennan G. 2019. Comparison of mycotoxin concentrations in grain versus grain-free dry and wet commercial dog foods. *Toxicol Commun*. 3: 61–66.
- Martínez-Martínez L, Valdivia-Flores AG, Guerrero-Barrera AL, Quezada-Tristán T, Rangel-Muñoz EJ, Ortiz-Martínez R. 2021. Toxic Effect of aflatoxins in dogs fed contaminated commercial dry feed: A Review. *Toxins (Basel)*. 13(1):65.
- Kępińska-Pacelik J, Biel W. 2021a. Alimentary risk of mycotoxins for humans and animals. *Toxins*. 13:822.
- Kępińska-Pacelik J, Biel W. 2021b. Microbiological hazards in dry dog chews and feeds. *Animals*. 11:631.
- Leung MC, Díaz-Llano G, Smith TK. 2006. Mycotoxins in pet food: a review on worldwide prevalence and preventative strategies. *J Agric Food Chem*. 54(26):9623-9635.
- Reis-Gomes A, Marcolongo-Pereira C, Sallis ESV, Pereira DIB, Schild AL, Faria RO, Meireles MCA. 2014. Aflatoxicosis in dogs in Southern Rio Grande do Sul. *Pesq Vet Bras*. 34:162–166.

Bissoqui LY, Frehse MS, Freire RL, Ono MA, Bordini JG, Hirozawa MT, de Oliveira AJ, Ono EY. 2016. Exposure assessment of dogs to mycotoxins through consumption of dry feed. *J Sci Food Agric.* 96: 4135–4142.

Witaszak N, Stępień Ł, Bocianowski J, Waśkiewicz A. 2019. Fusarium species and mycotoxins contaminating veterinary diets for dogs and cats. *Microorganisms.* 7(1):26.

Witaszak N, Waśkiewicz A, Bocianowski J, Stępień Ł. 2020. Contamination of pet food with mycobiota and *fusarium* mycotoxins-focus on dogs and cats. *Toxins (Basel).* 12(2):130.

**5. INTERNATIONAL FOOD, AGRICULTURE AND VETERINARY SCIENCES CONGRESS**  
**17 - 19 February 2023, Turkiye**  
**Kafkas University, Kars**

**Table 1.** Prevalence and concentrations of total aflatoxin in commercial dog foods with different ingredients

Food ingredients	Food class	Total aflatoxin	Ochratoxin-A	Fumonisin-B1	Zearalenone	Total mycotoxin
		Concentration, ppb in DM				
		Mean	Mean	Mean	Mean	Mean
LG-food	P-food	0.86	0.00	75.59	215.20	291.65
	E-food	0.93	12.75	968.57	0.00	982.27
FG-food	P-food	0.00	0.00	0.00	159.81	160.76
	E-food	0.00	71.67	923.51	15.29	1012.75
GFree-food	P-food	0.00	0.00	0.00	0.00	1.60
	E-food	0.00	40.74	157.65	11.18	211.94
CG-food	P-food	1.78	0.00	101.20	235.93	338.91
	E-food	2.35	41.19	1338.68	0.00	1382.23
Food ingredients	LG-food	0.89 <sup>a</sup>	6.37	522.08 <sup>b</sup>	107.60 <sup>a</sup>	636.96 <sup>a</sup>
	FG-food	0.00 <sup>b</sup>	35.83	461.75 <sup>b</sup>	87.55 <sup>a</sup>	586.76 <sup>a</sup>
	GFree-food	0.00 <sup>b</sup>	20.37	78.82 <sup>c</sup>	5.59 <sup>b</sup>	106.77 <sup>b</sup>
	CG-food	2.06 <sup>a</sup>	20.59	719.94 <sup>a</sup>	117.96 <sup>a</sup>	860.57 <sup>a</sup>
Food class	P-food	1.30	0.00	44.19	152.73	198.23
	E-food	1.98	41.59	847.10	6.61	897.30
<b>Two-way analysis of variance</b>						
SD		1.48	71.45	752.68	196.51	779.89
SEM		0.46	23.26	192.99	59.17	215.52
P value	Food ingredients	0.022	0.848	0.044	0.035	0.011
	Food class	0.054	0.033	<0.001	0.019	0.003
	Food ingredients * Food class	0.827	0.848	0.259	0.455	0.569

LG-food: dog foods with lamb meal (or by products) + grain, FG-food: dog foods with fish meal (or by products) + grain, CG-food: dog foods with chicken meal (or by products) + grain, GFree-food: dog foods with animal by-products + grain-free.

<sup>a,c</sup>: The difference between the average values indicated by different letters at same column.

**BILDIRCINLARDA BETAİN İLAVESİNİN GÖĞÜS ETİ MALONDİALDEHİT VE  
GLUTATYON SEVİYELERİ ÜZERİNE ETKİSİ**  
**THE EFFECT OF BETAİN ADDITIONAL ON BREAST MALONDIALDEHYDE AND  
GLUTATION LEVELS IN QUAILS**

**Mustafa MAKAV<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Doç. Dr., Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji AD., Kars, Türkiye.*

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1879-8180>

**Tarkan ŞAHİN<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>*Prof. Dr., Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları AD., Kars, Türkiye.*

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0155-2707>

**ÖZET**

Betain, metil donörü görevi gören üç metil grubuna sahip uzun zincirli glisin amino asidinin bir türevidir. Bu çalışmada bıldırcın diyetlerine betain ilavesinin göğüs eti Malondialdehit (MDA) ve Glutatyon (GSH) üzerine etkilerini incelemek amacı ile yapılmıştır. Araştırma 150 adet günlük yaştaki japon bıldırcınıyla gerçekleştirildi. Araştırmada hayvanlar kontrol (K) ile %0.3 betain HCL (B1) ve %0.8 betain HCL (B2) ilaveli deneme gruplarına ayrıldı. Hayvanlara yem ve su ad-libitum verildi. Deneme rasyonları izokalorik ve izonitrojenik olarak hazırlandı. Çalışmanın sonunda her gruptan rastgele 10 adet bıldırcın seçilerek kesildi. Ayrılan karkastan göğüs eti alınarak, MDA ve GSH düzeyleri ölçüldü. Çalışma sonuçlarına göre grupların MDA düzeyleri sırasıyla; 5.37 (K), 6.16 (B1), 5.88 (B2) nmol/g olarak ölçüldü ( $p>0.05$ ). GSH seviyeleri ise yine sırasıyla; 10.40 (K), 9.68 (B1), 9.07 (B2) nmol/g olarak analiz edildi ( $p>0.05$ ). Sonuç olarak, betain ilavesi göğüs etinde oksidan ve antioksidan durumu istatistiksel olarak etkilememektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Antioksidan, Betain, bıldırcın, GSH, MDA

**ABSTRACT**

Betaine is a derivative of the long-chain amino acid glycine with three methyl groups that act as a methyl donor. The aim of this study was to determine the effects of betaine supplementation in quail diets on breast meat Malondialdehyde (MDA) and Glutathione (GSH). The trial was carried out with 150 day-old Japanese quails. In the study, animals were divided into control (K) and experimental groups with 0.3% betaine HCL (B1) and 0.8% betaine HCL (B2). Animals were given feed and water ad libitum. Trial rations were prepared as isocaloric and isonitrogenous. At the end of the study, 10 quails were randomly selected from each group and slaughtered. Breast meat was taken from the separated carcass and MDA and GSH levels were measured. According to the results of the study, the MDA levels of the groups were 5.37 (K), 6.16 (B1), and 5.88 (B2) nmol/g, respectively ( $p>0.05$ ). The GSH levels were 10.40 (K), 9.68 (B1), and 9.07 (B2) nmol/g, respectively ( $p>0.05$ ). As a result, the addition of betaine does not statistically affect the oxidant and antioxidant status in breast meat.

**Keywords:** Antioxidant, Betaine, GSH, MDA, quails.

**Giriş**

Metil donörü olan ve esansiyel amino asitlerin kaynağı olarak kullanılan betain maddesi sayesinde besin maddelerinden yararlanmanın iyileştirilmesi ve karkas veriminin artırılması ile hayvanın sağlığı üzerine olumlu etkileri son yıllarda yapılan bazı çalışmalarla ortaya koyulmuştur. Aynı zamanda betain



maddesinin karın yağlarının yakılmasında etkin rol oynayarak büyüme için daha fazla enerji sağlanmasına yardımcı olduğu bildirilmiştir. Karma yemlerde büyüme destekleyici olarak birçok kimyasal ürün bulunmaktadır. Betain kanatlılarda sağlıklı büyüme ve ürün kalitesini iyileştirmek amacıyla metil donörü özelliği bulunan ve kısıtlayıcı esansiyel amino asitlerin sentezinde önemli bir etki oluşturmaktadır. Betainin antioksidan etkisinin olduğu da bilinmektedir (Enting vd., 2007; Uzunoglu, 2015).

Kasların çeşitli endojen prooksidan ve antioksidan sistemler içerdiği iyi bilinmektedir ve etin lipid peroksidasyon süreci, antioksidan savunmaların peroksidasyon mekanizmaları tarafından aşılmasıyla sonuçlanır (Decker & Xu, 1998; Gheisari & Motamedi, 2010). Glutatyon antioksidan sistemi, reaktif oksijen türlerine (ROS) karşı hücrel savunmada temel bir rol oynar. Hücrel tripeptit, GSH ( $\gamma$ -glutamil sisteinil glisin), serbest radikalleri nötralize ederek peroksidatif hasarı azaltır (Alirezai vd., 2011; Ganesan vd., 2010). Peroksidatif yıkımdan sorumlu olan glutatyon peroksidaz (GPx), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) dokuları oksidatif hasara karşı korumada özel bir role sahiptir (Ganesan vd., 2010). Oksidatif strese bu enzimlerin aktivitesinin azalması,  $O_2^-$  ve  $H_2O_2$  oluşumuna neden olabilir, bu da hidroksil radikalini (OH) oluşturabilir ve lipid peroksidasyonuna yol açan bir dizi zararlı reaksiyona neden olabilir (Kalra vd., 1988). Memelilerde yapılan önceki çalışmalar, metabolizma sırasında üretilen ROS'un, antioksidan savunmalar oksidatif stres tarafından aşıldığında lipid peroksidasyonu ile sonuçlanan yeterince giderilmediğini göstermiştir (Vogt & Richie, 1993; Zhang vd., 2008). Lipid peroksidasyonu, et kalitesi üzerinde önemli ölçüde olumsuz bir etkiye sahip olan etteki ekşime ile doğrudan bağlantılıdır. Malondialdehit, lipid peroksidasyonundan türetilen bir metabolittir ve oksidatif hasar ve et kalitesinin bir göstergesi olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (Zhang vd., 2008). Antioksidanlar, etteki serbest radikal aktivitelerini azaltarak lipid peroksidasyonunu geciktirir veya önler ve yemin antioksidan takviyesi, oksidatif stabiliteyi arttırmak için etkili bir yöntemdir (Gheisari & Motamedi, 2010).

Bu çalışma ile bıldırcınlara verilen betainin kas dokusundaki antioksidan etki belirlenerek bilime, çevreye, hayvan sağlığına aynı zamanda hayvansal protein ihtiyacını bu ürünlerle karşılayan halkın sağlığına da katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

### **Materyal Metot**

Araştırma 150 adet günlük yaşta japo bıldırcınıyla gerçekleştirildi. Araştırmada hayvanlar kontrol (K) ile %0.3 betain HCL (B1) ve %0.8 betain HCL (B2) ilaveli deneme gruplarına ayrıldı. Çalışmada japo bıldırcınları %22 HP ve 2900 kcal/kg ME içeren bıldırcın büyütme yemi rasyonu ile ad libitum beslendi, su hayvanlara ad-libitum olarak sağlandı. Deneme süresince hayvanlara 24 saat aydınlık uygulandı. Denemenin ilk grubuna (K) herhangi bir ilave yapılmazken diğer deneme gruplarına sırasıyla %0,3 (B1) ve %0,8 (B2) betain HCL bazal diyeteye ilave edildi. Rasyonlara ilave edilen Betain Vimar AŞ.- İstanbul'dan temin edildi.

Çalışmanın sonunda her gruptan rastgele 10 adet bıldırcın seçilerek kesildi. Ayrılan karkastan göğüs eti alındı. Alınan doku örnekleri fosfat tamponunda homojenizasyon işlemi yapılarak parçalandı. Daha sonra 3000 RPM de 10 dakika santrifüj işlemi yapılarak üstte kalan süpernatantları alındı. Çıkarılan süpernatantlardan Yoshioka ve ark. (Yoshioka vd., 1979) metoduna göre MDA, Beutler ve ark. (Beutler vd., 1963) metoduna göre ise GSH düzeyleri ölçüldü.

### **İstatistiksel Analiz**

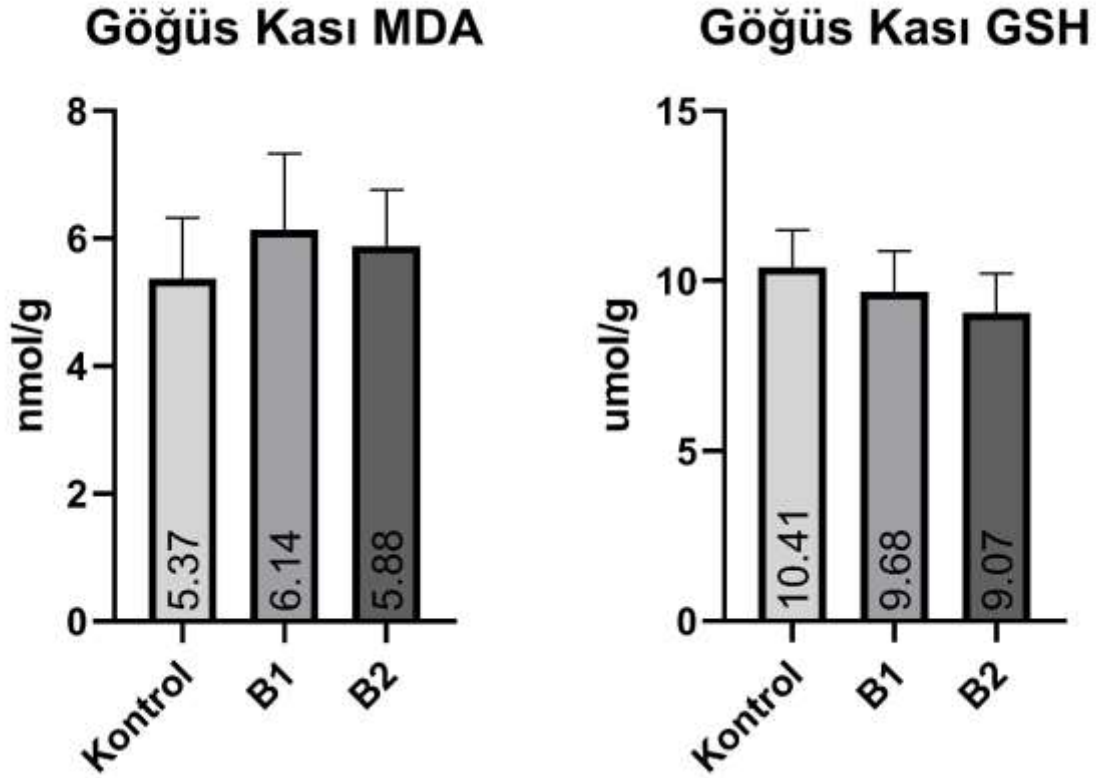
İstatistiksel analizler graphpad paket (Graphpad Prism 8, CA, ABD) programı kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen biyokimyasal sonuçlardaki farklılıkları belirlemek için One-way anova analizi kullanıldı. Sonuçlar, Tukey anlamlılık farkı (HSD) testi kullanılarak yorumlandı. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma olarak ifade edildi.

### **Bulgular**

Biyokimyasal olarak bıldırcınların göğüs kasından alınan örneklerden MDA ve GSH parametrelerine bakılmıştır. Bu bağlamda yapılan analize göre MDA ve GSH verilerinde gruplar arasında istatistiksel bir fark tespit edilmemiştir ( $P>0.05$ , Şekil 1).

## Sonuç

Japon bıldırcınlarında yapılan çalışmada betain ilavesi göğüs etinde MDA ve GSH parametrelerinde değişikliğe neden olmamıştır. Bu bağlamda betain göğüs etinde oksidan ve antioksidan durumu istatistiksel olarak etkilemediği belirlenmiştir.



Şekil 1: Göğüs kasında MDA ve GSH parametreleri

## KAYNAKÇA

- Alirezai, M., Jelodar, G., Niknam, P., Ghayemi, Z., & Nazifi, S. (2011). Betaine prevents ethanol-induced oxidative stress and reduces total homocysteine in the rat cerebellum. *Journal of physiology and biochemistry*, 67(4), 605–612. <https://doi.org/10.1007/s13105-011-0107-1>
- Beutler, E., Duron, O., & Kelly, B. M. (1963). Improved method for the determination of blood glutathione. *The Journal of laboratory and clinical medicine*, 61, 882–888. <https://ci.nii.ac.jp/naid/10005420816/>
- Decker, E. A., & Xu, Z. (1998). Minimizing rancidity in muscle foods. *Food Technology*, 52(10), 54–59. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US1997090057>
- Enting, H., Eissen, J., de Los Mozos, J., del Álamo, A. G., & de Ayala, P. P. (2007). TNI-Betain improves broiler chicken performance and carcass quality under heat stress conditions. *16th European Symposium on Poultry Nutrition*, 297–300. <https://www.cabi.org/Uploads/animal-science/worlds-poultry-science-association/WPSA-france-2007/35.pdf>
- Ganesan, B., Buddhan, S., Anandan, R., Sivakumar, R., & AnbinEzhilan, R. (2010). Antioxidant defense of betaine against isoprenaline-induced myocardial infarction in rats. *Molecular Biology Reports*, 37(3), 1319–1327. <https://doi.org/10.1007/s11033-009-9508-4>
- Gheisari, H. R., & Motamedi, H. (2010). Chloride salt type/ionic strength and refrigeration effects on antioxidant enzymes and lipid oxidation in cattle, camel and chicken meat. *Meat Science*, 86(2), 377–383. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.05.020>

Kalra, J., Lautner, D., Massey, K. L., & Prasad, K. (1988). Oxygen free radicals induced release of lysosomal enzymes in vitro. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 84(2), 233–238. <https://doi.org/10.1007/BF00421058>

Uzunoglu, K. (2015). Broyler Rasyonlarına Betain ve Sepiyolit İlavesinin Performans Ve Bağırsak Sağlığı Üzerine Etkisi. İçinde *dergiler.ankara.edu.tr*. <https://dergiler.ankara.edu.tr/xmlui/handle/20.500.12575/83473>

Vogt, B. L., & Richie, J. P. (1993). Fasting-induced depletion of glutathione in the aging mouse. *Biochemical Pharmacology*, 46(2), 257–263. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(93\)90412-P](https://doi.org/10.1016/0006-2952(93)90412-P)

Yoshioka, T., Kawada, K., Shimada, T., & Mori, M. (1979). Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 135(3), 372–376. [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(79\)90708-7](https://doi.org/10.1016/0002-9378(79)90708-7)

Zhang, X. D., Zhu, Y. F., Cai, L. S., & Wu, T. X. (2008). Effects of fasting on the meat quality and antioxidant defenses of market-size farmed large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). *Aquaculture*, 280(1–4), 136–139. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.05.010>

**BILDIRCINLARDA BETAİN İLAVESİNİN GÖĞÜS ETİ MALONDİALDEHİT VE  
GLUTATYON SEVİYELERİ ÜZERİNE ETKİSİ**  
**THE EFFECT OF BETAİN ADDITIONAL ON BREAST MALONDIALDEHYDE AND  
GLUTATION LEVELS IN QUAILS**

**Mustafa MAKAV<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Doç. Dr., Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji AD., Kars, Türkiye.*

<sup>1</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1879-8180>

**Tarkan ŞAHİN<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>*Prof. Dr., Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları AD., Kars, Türkiye.*

<sup>2</sup>ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0155-2707>

**ÖZET**

Betain, metil donörü görevi gören üç metil grubuna sahip uzun zincirli glisin amino asidinin bir türevidir. Bu çalışmada bıldırcın diyetlerine betain ilavesinin göğüs eti Malondialdehit (MDA) ve Glutatyon (GSH) üzerine etkilerini incelemek amacı ile yapılmıştır. Araştırma 150 adet günlük yaştaki japon bıldırcınıyla gerçekleştirildi. Araştırmada hayvanlar kontrol (K) ile %0.3 betain HCL (B1) ve %0.8 betain HCL (B2) ilaveli deneme gruplarına ayrıldı. Hayvanlara yem ve su ad-libitum verildi. Deneme rasyonları izokalorik ve izonitrojenik olarak hazırlandı. Çalışmanın sonunda her gruptan rastgele 10 adet bıldırcın seçilerek kesildi. Ayrılan karkastan göğüs eti alınarak, MDA ve GSH düzeyleri ölçüldü. Çalışma sonuçlarına göre grupların MDA düzeyleri sırasıyla; 5.37 (K), 6.16 (B1), 5.88 (B2) nmol/g olarak ölçüldü ( $p>0.05$ ). GSH seviyeleri ise yine sırasıyla; 10.40 (K), 9.68 (B1), 9.07 (B2) nmol/g olarak analiz edildi ( $p>0.05$ ). Sonuç olarak, betain ilavesi göğüs etinde oksidan ve antioksidan durumu istatistiksel olarak etkilememektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Antioksidan, Betain, bıldırcın, GSH, MDA

**ABSTRACT**

Betaine is a derivative of the long-chain amino acid glycine with three methyl groups that act as a methyl donor. The aim of this study was to determine the effects of betaine supplementation in quail diets on breast meat Malondialdehyde (MDA) and Glutathione (GSH). The trial was carried out with 150 day-old Japanese quails. In the study, animals were divided into control (K) and experimental groups with 0.3% betaine HCL (B1) and 0.8% betaine HCL (B2). Animals were given feed and water ad libitum. Trial rations were prepared as isocaloric and isonitrogenous. At the end of the study, 10 quails were randomly selected from each group and slaughtered. Breast meat was taken from the separated carcass and MDA and GSH levels were measured. According to the results of the study, the MDA levels of the groups were 5.37 (K), 6.16 (B1), and 5.88 (B2) nmol/g, respectively ( $p>0.05$ ). The GSH levels were 10.40 (K), 9.68 (B1), and 9.07 (B2) nmol/g, respectively ( $p>0.05$ ). As a result, the addition of betaine does not statistically affect the oxidant and antioxidant status in breast meat.

**Keywords:** Antioxidant, Betaine, GSH, MDA, quails.

**Giriş**

Metil donörü olan ve esansiyel amino asitlerin kaynağı olarak kullanılan betain maddesi sayesinde besin maddelerinden yararlanmanın iyileştirilmesi ve karkas veriminin artırılması ile hayvanın sağlığı üzerine olumlu etkileri son yıllarda yapılan bazı çalışmalarla ortaya koyulmuştur. Aynı zamanda betain

maddesinin karın yağlarının yakılmasında etkin rol oynayarak büyüme için daha fazla enerji sağlanmasına yardımcı olduğu bildirilmiştir. Karma yemlerde büyüme destekleyici olarak birçok kimyasal ürün bulunmaktadır. Betain kanatlılarda sağlıklı büyüme ve ürün kalitesini iyileştirmek amacıyla metil donörü özelliği bulunan ve kısıtlayıcı esansiyel amino asitlerin sentezinde önemli bir etki oluşturmaktadır. Betainin antioksidan etkisinin olduğu da bilinmektedir (Enting vd., 2007; Uzunoglu, 2015).

Kasların çeşitli endojen prooksidan ve antioksidan sistemler içerdiği iyi bilinmektedir ve etin lipid peroksidasyon süreci, antioksidan savunmaların peroksidasyon mekanizmaları tarafından aşılmasıyla sonuçlanır (Decker & Xu, 1998; Gheisari & Motamedi, 2010). Glutatyon antioksidan sistemi, reaktif oksijen türlerine (ROS) karşı hücrel savunmada temel bir rol oynar. Hücrel tripeptit, GSH ( $\gamma$ -glutamil sisteinil glisin), serbest radikalleri nötralize ederek peroksidatif hasarı azaltır (Alirezai vd., 2011; Ganesan vd., 2010). Peroksidatif yıkımdan sorumlu olan glutatyon peroksidaz (GPx), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) dokuları oksidatif hasara karşı korumada özel bir role sahiptir (Ganesan vd., 2010). Oksidatif strese bu enzimlerin aktivitesinin azalması,  $O_2^-$  ve  $H_2O_2$  oluşumuna neden olabilir, bu da hidroksil radikalini (OH) oluşturabilir ve lipid peroksidasyonuna yol açan bir dizi zararlı reaksiyona neden olabilir (Kalra vd., 1988). Memelilerde yapılan önceki çalışmalar, metabolizma sırasında üretilen ROS'un, antioksidan savunmalar oksidatif stres tarafından aşıldığında lipid peroksidasyonu ile sonuçlanan yeterince giderilmediğini göstermiştir (Vogt & Richie, 1993; Zhang vd., 2008). Lipid peroksidasyonu, et kalitesi üzerinde önemli ölçüde olumsuz bir etkiye sahip olan etteki ekşime ile doğrudan bağlantılıdır. Malondialdehit, lipid peroksidasyonundan türetilen bir metabolittir ve oksidatif hasar ve et kalitesinin bir göstergesi olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (Zhang vd., 2008). Antioksidanlar, etteki serbest radikal aktivitelerini azaltarak lipid peroksidasyonunu geciktirir veya önler ve yemin antioksidan takviyesi, oksidatif stabiliteyi arttırmak için etkili bir yöntemdir (Gheisari & Motamedi, 2010).

Bu çalışma ile bıldırcınlara verilen betainin kas dokusundaki antioksidan etki belirlenerek bilime, çevreye, hayvan sağlığına aynı zamanda hayvansal protein ihtiyacını bu ürünlerle karşılayan halkın sağlığına da katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

### **Materyal Metot**

Araştırma 150 adet günlük yaşta japon bıldırcınıyla gerçekleştirildi. Araştırmada hayvanlar kontrol (K) ile %0.3 betain HCL (B1) ve %0.8 betain HCL (B2) ilaveli deneme gruplarına ayrıldı. Çalışmada japon bıldırcınları %22 HP ve 2900 kcal/kg ME içeren bıldırcın büyütme yemi rasyonu ile ad libitum beslendi, su hayvanlara ad-libitum olarak sağlandı. Deneme süresince hayvanlara 24 saat aydınlık uygulandı. Denemenin ilk grubuna (K) herhangi bir ilave yapılmazken diğer deneme gruplarına sırasıyla %0,3 (B1) ve %0,8 (B2) betain HCL bazal diyeteye ilave edildi. Rasyonlara ilave edilen Betain Vimar AŞ.- İstanbul'dan temin edildi.

Çalışmanın sonunda her gruptan rastgele 10 adet bıldırcın seçilerek kesildi. Ayrılan karkastan göğüs eti alındı. Alınan doku örnekleri fosfat tamponunda homojenizasyon işlemi yapılarak parçalandı. Daha sonra 3000 RPM de 10 dakika santrifüj işlemi yapılarak üstte kalan süpernatantları alındı. Çıkarılan süpernatantlardan Yoshioka ve ark. (Yoshioka vd., 1979) metoduna göre MDA, Beutler ve ark. (Beutler vd., 1963) metoduna göre ise GSH düzeyleri ölçüldü.

### **İstatistiksel Analiz**

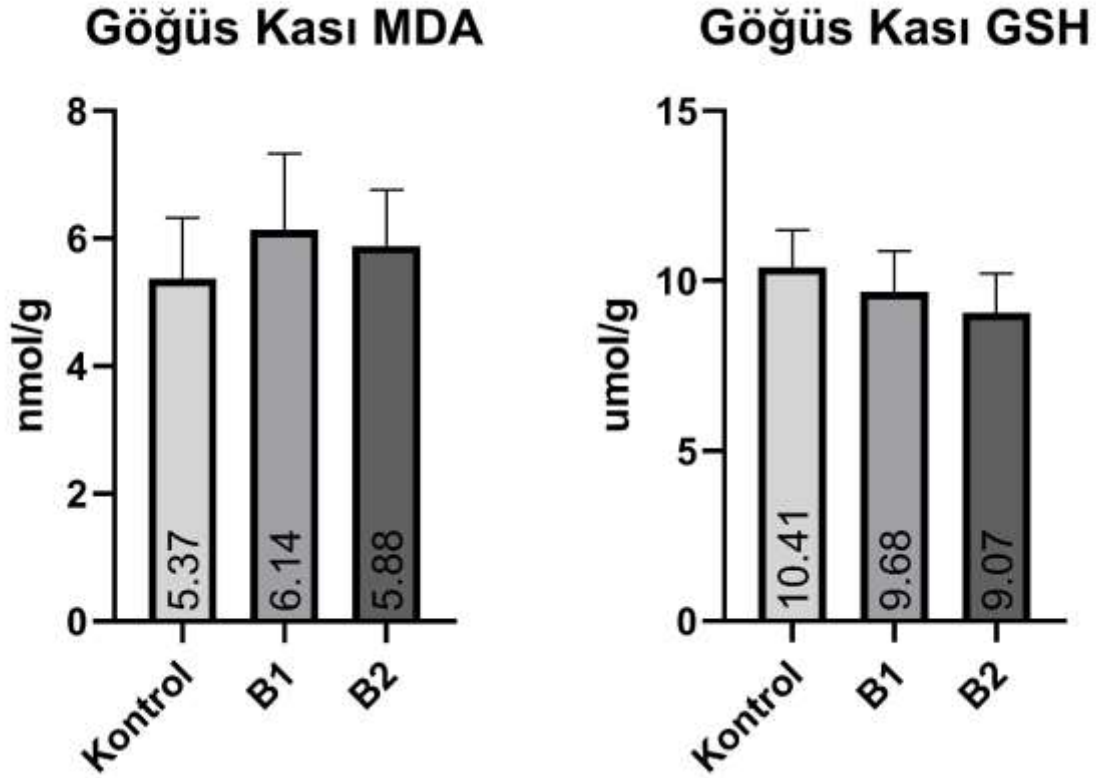
İstatistiksel analizler graphpad paket (Graphpad Prism 8, CA, ABD) programı kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen biyokimyasal sonuçlardaki farklılıkları belirlemek için One-way anova analizi kullanıldı. Sonuçlar, Tukey anlamlılık farkı (HSD) testi kullanılarak yorumlandı. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma olarak ifade edildi.

### **Bulgular**

Biyokimyasal olarak bıldırcınların göğüs kasından alınan örneklerden MDA ve GSH parametrelerine bakılmıştır. Bu bağlamda yapılan analize göre MDA ve GSH verilerinde gruplar arasında istatistiksel bir fark tespit edilmemiştir ( $P>0.05$ , Şekil 1).

## Sonuç

Japon bıldırcınlarında yapılan çalışmada betain ilavesi göğüs etinde MDA ve GSH parametrelerinde değişikliğe neden olmamıştır. Bu bağlamda betain göğüs etinde oksidan ve antioksidan durumu istatistiksel olarak etkilemediği belirlenmiştir.



Şekil 1: Göğüs kasında MDA ve GSH parametreleri

## KAYNAKÇA

- Alirezaei, M., Jelodar, G., Niknam, P., Ghayemi, Z., & Nazifi, S. (2011). Betaine prevents ethanol-induced oxidative stress and reduces total homocysteine in the rat cerebellum. *Journal of physiology and biochemistry*, 67(4), 605–612. <https://doi.org/10.1007/s13105-011-0107-1>
- Beutler, E., Duron, O., & Kelly, B. M. (1963). Improved method for the determination of blood glutathione. *The Journal of laboratory and clinical medicine*, 61, 882–888. <https://ci.nii.ac.jp/naid/10005420816/>
- Decker, E. A., & Xu, Z. (1998). Minimizing rancidity in muscle foods. *Food Technology*, 52(10), 54–59. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US1997090057>
- Enting, H., Eissen, J., de Los Mozos, J., del Álamo, A. G., & de Ayala, P. P. (2007). TNI-Betain improves broiler chicken performance and carcass quality under heat stress conditions. *16th European Symposium on Poultry Nutrition*, 297–300. <https://www.cabi.org/Uploads/animal-science/worlds-poultry-science-association/WPSA-france-2007/35.pdf>
- Ganesan, B., Buddhan, S., Anandan, R., Sivakumar, R., & AnbinEzhilan, R. (2010). Antioxidant defense of betaine against isoprenaline-induced myocardial infarction in rats. *Molecular Biology Reports*, 37(3), 1319–1327. <https://doi.org/10.1007/s11033-009-9508-4>
- Gheisari, H. R., & Motamedi, H. (2010). Chloride salt type/ionic strength and refrigeration effects on antioxidant enzymes and lipid oxidation in cattle, camel and chicken meat. *Meat Science*, 86(2), 377–383. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.05.020>

Kalra, J., Lautner, D., Massey, K. L., & Prasad, K. (1988). Oxygen free radicals induced release of lysosomal enzymes in vitro. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 84(2), 233–238. <https://doi.org/10.1007/BF00421058>

Uzunoglu, K. (2015). Broyler Rasyonlarına Betain ve Sepiyolit İlavesinin Performans Ve Bağırsak Sağlığı Üzerine Etkisi. İçinde *dergiler.ankara.edu.tr*. <https://dergiler.ankara.edu.tr/xmlui/handle/20.500.12575/83473>

Vogt, B. L., & Richie, J. P. (1993). Fasting-induced depletion of glutathione in the aging mouse. *Biochemical Pharmacology*, 46(2), 257–263. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(93\)90412-P](https://doi.org/10.1016/0006-2952(93)90412-P)

Yoshioka, T., Kawada, K., Shimada, T., & Mori, M. (1979). Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 135(3), 372–376. [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(79\)90708-7](https://doi.org/10.1016/0002-9378(79)90708-7)

Zhang, X. D., Zhu, Y. F., Cai, L. S., & Wu, T. X. (2008). Effects of fasting on the meat quality and antioxidant defenses of market-size farmed large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). *Aquaculture*, 280(1–4), 136–139. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.05.010>

---

5<sup>th</sup> INTERNATIONAL CONFERENCE ON FOOD,  
AGRICULTURE AND VETERINARY  
17 - 19 February 2023, Türkiye

---



İlgili makama;

**5. Uluslararası Gıda, Tarım ve Veteriner Bilimleri Kongresi**” 17-19 Mart 2023 tarihleri arasında Kafkas Üniversitesinde 38 farklı ülkenin akademisyen/araştırmacılarının katılımıyla gerçekleşmiştir. Kongre kapsamında sunumu yapılan 426 bildirinin 202 adeti Türkiye’den katılımcılar tarafından; 224 bildiri ise 38 ülkeden katılımcılar tarafından sunulmuştur. Kongre 16 Ocak 2020 Akademik Teşvik Ödeneği Yönetmeliğine getirilen *“Tebliğlerin sunulduğu yurt içinde veya yurt dışındaki etkinliğin uluslararası olarak nitelendirilebilmesi için Türkiye dışında en az beş farklı ülkeden sözlü tebliğ sunan konuşmacının katılım sağlaması ve tebliğlerin yarısından fazlasının Türkiye dışından katılımcılar tarafından sunulması esastır.”* değişikliğine uygun düzenlenmiştir.

Bilgilerinize arz edilir,

Saygılarımla,

A handwritten signature in blue ink, likely belonging to Ass. Prof. Mükremin ÖLMEZ.

**Ass. Prof. Mükremin ÖLMEZ**  
Kafkas University Laboratory Animals Research  
and Application Centre, Director  
**Düzenleme Kurulu Başkanı**