

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI ANABİLİM DALI



**DONÖR İNEK RASYONLARINA DOYMAMIŞ YAĞ ASİTİ
İLAVESİNİN SÜPEROVULASYON PERFORMANSI VE EMBRİYO
KALİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

DOKTORA TEZİ
Serdal ÇOBAN

Danışman

Prof. Dr. Zeynep ERDOĞAN

HATAY – 2017

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**DONÖR İNEK RASYONLARINA DOYMAMIŞ YAĞ ASİTİ
İLAVESİNİN SÜPEROVULASYON PERFORMANSI VE EMBRİYO
KALİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

DOKTORA TEZİ

Serdal ÇOBAN

Danışman

Prof. Dr. Zeynep ERDOĞAN

Bu tez, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü tarafından TAGEM /
HAYSÜD / AR-GE /15/A02/P03/03 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

HATAY – 2017

T.C.
MUSTAFA KEMALÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**DONÖR İNEK RASYONLARINA DOYMAMIŞ YAĞ ASİTİ
İLAVESİNİN SÜPEROVULASYON PERFORMANSI VE EMBRİYO
KALİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

Doktora Tezi

Serdal ÇOBAN

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından 18/07/2017 günü sözlü olarak yapılan tez savunma sınavında oybirliği ile kabul edilmiştir.

Tez Jürisi: Jüri başkanı: Prof. Dr. Zeynep ERDOĞAN.....
Üye: Prof. Dr. Sakine YALÇIN.....
Üye: Prof. Dr. Seher KÜÇÜKERSAN.....
Üye: Doç. Dr. Yaşar ERGÜN.....
Üye: Yrd. Doç. Dr. Bülent ÖZSOY.....

Bu tez, Enstitümüz Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır.

18/07/2017

Doç. Dr. Fatih SAKİN
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasında, rasyona ilave edilen α -linolenik asitçe zengin yağ asiti kaynağının donör ineklerde süperovulasyon performansı ve embriyo kalitesi üzerine etkilerinin araştırılması amaçlandı.

Bu çalışma konusunun belirlenmesinde, planlanmasında ve çalışmamın her aşamasında bilimsel katkılarıyla her zaman desteğini gördüğüm danışman hocam sayın Prof. Dr. Zeynep ERDOĞAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Mevcut tez çalışması, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü tarafından TAGEM / HAYSÜD / AR-GE /15/A02/P03/03 numaralı proje olarak desteklendi. Desteklerinden ötürü, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü'ne (TAGEM) ve projenin yürütülmesi için hayvan, yem ve barınak imkânlarını sağladıkları için Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ne ve personeline şükranlarımı sunarım.

Çalışmada kullanılan ticari katkı maddesinin temininde ve ithalatında her türlü desteği sağlayan Volac International Limited, UK, Şirketine ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

Değerli çalışma arkadaşlarım, Veteriner Hekimler Erkan SAY, Uğur KARA, Hasan MUTLU, İsmail YILMAZ, Ziraat Yüksek Mühendisi Dr. Tugay AYAŞAN ile Biyolog Nurşen KESER'e yürekten teşekkür ediyorum. Çalışmada saha ve bilimsel destekleri ile her zaman yanımda olan Prof. Dr. Yavuz NAK ve Prof. Dr. Hakan SAĞIRKAYA ve Yrd. Doç. Dr. Bülent ÖZSOY'a teşekkürlerimi belirtmek isterim.

Doktora eğitimim boyunca hep yanımda olan değerli eşim Hafize KARACA ÇOBAN'a yürekten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
Kabul ve Onay	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	V
ÇİZELGELER DİZİNİ	VI
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	VII
ÖZET	IX
ABSTRACT	X
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Embriyo Transferi	5
2.2. Süperovulasyon	8
2.2.1. Süperovulasyonun Başarısını Etkileyen Faktörler	12
2.3. Donör İneklerde Döl Verimi ve Beslenme İlişkisi	15
2.3.1. Enerji ve Döl Verimi İlişkisi	20
2.4. Rasyon Yağı ve Döl Verimi İlişkisi	22
2.4.1. Rasyona Yağ Asiti İlavesinin Döl Verimine Etkisi	27
3. GEREÇ ve YÖNTEM	38
3.1. Gereç	38
3.1.1. Hayvan Metaryali ve Seçimi	38
3.1.2. Yem Materyali ve Katkı Maddesi Temini	38
3.1.3. Barınaklar ve Bakım Şartları	40
3.2. Yöntem	41
3.2.1. Deneme Gruplarının Oluşturulması	41
3.2.2. Hayvanların Beslenmesi	41
3.2.3. Ovaryumların Ultrasonografi Yöntemiyle Muayenesi	42
3.2.4. Süperovulasyon Protokolü	42
3.2.5. Kan Numunelerinin Alınması	44
3.2.6. Uterus Yıkama	44
3.2.7. Embriyoların Aranması ve Değerlendirilmesi	47
3.2.8. Kan-Progesteron Düzeylerinin Ölçümü	51
3.3. İstatiksel Analizler	52
4. BULGULAR	53
4.1. Kan Progesteron Düzeyleri	53
4.2. Süperovulasyon Yanıtları	54
4.3. Embriyo Kaliteleri	61
5. TARTIŞMA	66
5.1. Doymamış Yağ Asiti Kaynağının Süperovulasyon Performansı Üzerine Etkisi	66
5.2. Doymamış Yağ Asiti Kaynağının Embriyo Kalitesi Üzerine Etkisi	72
5.3. Doymamış Yağ Asiti Kaynağının Plazma Progesteron Düzeyleri Üzerine Etkisi	80
6. SONUÇ	83
7. KAYNAKLAR	84
ÖZGEÇMİŞ	93

Şekiller Dizini

Sayfa No

Şekil 2.1.1. Sığır Embriyo Transferinde Genel Prosedür.....	7
Şekil 2.2.1. Süperovulasyona Tabi Tutulmuş İnek Ovaryumu.....	9
Şekil 2.2.2. Süperovulasyon Sonrası Ovaryum Görüntüsü.....	9
Şekil 2.2.3. Sığır Embryosunun Gelişim Aşamaları.....	11
Şekil 2.3.1. Holştayn Süt Sığırlarında Gebelik Oranları ve Süt Verimi Arasındaki Ters İlişki.....	17
Şekil 2.4.1.1. Yağların Reprodüksiyona Etkisi.....	30
Şekil 3.2.4.1. Süperovulasyon Protokolü.....	43
Şekil 3.2.6.1. Uterus Yıkamasında Kullanılan Malzemeler.....	46
Şekil 3.2.7.1. Mikroskop Altında 60 mm'lik Petride Embriyo Aranması.....	47
Şekil 3.2.7.2. Birinci Kalite Embriyo.....	48
Şekil 3.2.7.3. İkinci Kalite Embriyo.....	49
Şekil 3.2.7.4. Üçüncü Kalite Embriyo.....	49
Şekil 3.2.7.5. Dejenere Embriyo.....	50
Şekil 3.2.7.6. UFO (Unfertilize oosit).....	50
Şekil 4.2.1. Flushing Öncesi Ovaryum Görüntüleri.....	59
Şekil 4.2.2. Flushing Öncesi Ovaryum Görüntüleri.....	59
Şekil 4.3.1. Flushing Sonrası Elde Edilen Çeşitli Safha ve Kalitedeki Oosit ve Embiyolar.....	64
Şekil 4.3.2. Flushing Sonrası Elde Edilen Çeşitli Safha ve Kalitedeki Oosit ve Embiyolar.....	64

Çizelgeler Dizini

Sayfa No

Çizelge 2.3.1. İşletmelerde Hedeflenen Önemli Döl Verimi Parametreleri.....	16
Çizelge 2.4.1.1. Rasyonlara Yağ İlave Edilmesinin Döl Verimi Üzerine Etkisi.....	36
Çizelge 3.1.2.1. Denemede Kullanılan Katkı Maddesinin Bileşimi.....	39
Çizelge 3.1.2.2. Denemede Hayvanlara Verilen TMR'nin Bileşimi ve Besin Madde İçeriği.....	40
Çizelge 3.2.4.1. Süperovulasyon Protokolü.....	43
Çizelge 4.1.1. Kan-Progesteron Düzeyleri.....	53
Çizelge 4.1.2. Ortalama Kan-Progesteron Düzeyleri.....	54
Çizelge 4.2.1. Kontrol Grubuna Ait Korpus Luteum ve Folikül Sayı – Çapları	54-55
Çizelge 4.2.2. Deneme Grubuna Ait Korpus Luteum ve Folikül Sayı – Çapları	56-57
Çizelge 4.2.3. Grupların Süperovulasyona Yanıtı, Fertilizasyon ve Embriyo Toplama Oranları	58
Çizelge 4.2.4. Ortalama Korpus Luteum Sayı ve Büyüklükleri.....	60
Çizelge 4.2.5. Ortalama Anovulatör Folikül Sayı ve Büyüklükleri.....	60
Çizelge 4.3.1. Gruplara Ait Transfer Edilebilir - Edilemez Embriyo, UFO, Dejenere Oosit, Toplam Embriyo ve Toplam Hücre Sayıları.....	61
Çizelge 4.3.2. Deneme Grubuna Ait Transfer Edilebilir, Transfer Edilemez Embriyo, Toplam Embriyo ve Toplam Hücre Sayıları.....	62
Çizelge 4.3.3. Kontrol Grubuna Ait Transfer Edilebilir, Transfer Edilemez Embriyo, Toplam Embriyo ve Toplam Hücre Sayıları.....	62
Çizelge 4.3.4. Deneme Grubuna Ait Embriyo Kaliteleri, UFO ve Dejenere Oosit Sayıları.....	63
Çizelge 4.3.5. Kontrol Grubuna Ait Embriyo Kaliteleri, UFO ve Dejenere Oosit Sayıları.....	63
Çizelge 4.3.6. Deneme ve Kontrol Grubuna Ait Embriyo Transferi İle İlgili Parametreler.....	65

Simgeler ve Kısaltmalar Dizini

ADF	: Asit Detajan Fiber
α	: Alfa
ALA	: Alfa Linolenik Asit
BLAD	: Bovine Leucocyte Adhesion Deficiency
BSE	: Bovine Spongiform Ensefalopati
bST	: Sığır Somatotropin
BVD	: Bovine Viral Diyare
Ca	: Kalsiyum
cc	: Cubic Centimeter
CDIR	: Kontrollü İnternal İlaç Salgılayıcı
CL	: Korpus Luteum
CLA	: Konjuge Linoleik Asit
CO ₂	: Karbon Dioksit
CVM	: Complex Vertebral Malformation
DHA	: Dokosaheksaenoik Asit
EPA	: Eikosapentaenoik Asit
FCS	: Fetal Calf Serum
FSH	: Folikül Stimüle Edici Hormon
δ	: Gama
GnRH	: Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
g	: Gram
HCG	: İnsan Koryonik Gonadotropin
HK	: Ham Kül
hMG	: İnsan Menapausal Gonadotropin
HP	: Ham Protein
HS	: Ham Selüloz
HY	: Ham Yağ
IBR	: Enfeksiyöz Bovine Rhinotraheitis
IETS	: Uluslararası Embriyo Transfer Topluluğu
IGF-1	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü 1
i.m.	: Kas İçi
MJ	: Mega Joule
kcal	: Kilo Kalori
Kg	: Kilogram
KM	: Kuru Madde
LH	: Luteinleştirici Hormon
Mcal	: Mega Kalori
ME	: Metabolik Enerji
Mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
MOET	: Çoklu Ovulasyon ve Embriyo Transferi
MUFA	: Tekli Doymamış Yağ Asiti
NDF	: Nötral Detarjan Fiber

NE	: Net Enerji
NEFA	: Serbest Yağ Asiti
NFC	: Lifli Olmayan Karbonhidrat
NRC	: National Research Council
ng	: Nanogram
n-3	: Omega-3
n-6	: Omega-6
°C	: Santigrat Derece
OPU	: Ovum Pick Up
PG	: Prostaglandin
PGF2 α	: Prostaglandin F2 α
PGE2	: Prostaglandin E2
PRID	: İnvaginal Progesteron Salan Araç
PMSG	: Gebe Kısırak Serum Gonadotropin
PUFA	: Çoklu Doymamış Yağ Asiti
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences
TCM-199	: Tissue Culture Medium-199
TMR	: Toplam Karma Rasyon
UFO	: Döllenme Olmamış Oosit
USG	: Ultrasonografi
VKS	: Vücut Kondisyon Skoru

ÖZET

Donör İnek Rasyonlarına Doymamış Yağ Asiti İlavesinin Süperovulasyon Performansı ve Embriyo Kalitesi Üzerine Etkileri

Bu araştırma, donör inek rasyonlarına omega-3 (α -linolenik asit) yağ asiti kaynağı ilavesinin süperovulasyon performansı, embriyo sayı ve kalitesi ile kan progesteron seviyeleri üzerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla yürütüldü.

Çalışma, her biri 10'ar adet siyah beyaz alaca ırkı süt ineğinden oluşan deneme ve kontrol grubu olmak üzere iki grup ile yürütüldü. Deneme başlangıcında, hayvanlar 10 gün boyunca yeme alıştırmaya amacıyla beslendi. Alıştırma döneminden sonra 30 gün süresince, kontrol grubu hazırlanan temel rasyonla, deneme grubu ise temel rasyon kuru madde (KM)'sinin % 3.77'si oranında katkı maddesi ilave edilen yemle beslendi. Denemede kullanılan katkı maddesi, rumen korunmuş yağ ile omega-3 yağ asiti bakımından zengin keten tohumunun kombinasyonundan oluşan, enerjice yoğun ticari bir üründür. Bu ürün, % 50 ham yağ ve 166 g/kg oranında C18:3 n-3 linolenik asit (omega-3) içeriğine sahiptir. Buna göre, deneme grubu hayvanlarının her birinin günlük olarak 149.4 g düzeyinde omega-3 tüketmesi sağlandı. Beslemenin 40. gününde ise süperovulasyon protokolü uygulamalarına başlandı. Süperovulasyon protokolü uygulamaları esnasında da besleme programına devam edildi. Elde edilen çalışma bulgularına göre; süperovulasyona yanıt bakımından gruplar arasındaki farkın önemsiz olduğu görüldü ($p>0.05$). Benzer şekilde gruplar arasında kan progesteron düzeyleri bakımından da önemli bir fark olmadığı tespit edildi ($p>0.05$). Kontrol grubu ile deneme grubu arasında transfer edilebilir ve transfer edilemez kalitedeki embriyo oranları bakımından fark ise önemli bulundu ($p<0.05$). Transfer edilen toplam embriyo sayısı deneme grubunda 37, kontrol grubunda ise 79 olarak belirlendi. Transfer edilemez toplam embriyo sayısı ise deneme grubunda 78, kontrol grubunda 43 olarak kaydedildi. Ayrıca, kontrol ve deneme grupları arasında, 1.ve 2. kaliteli embriyo ve dejenere embriyo sayıları ile dejenere oosit sayıları karşılaştırıldığında; 1. ve 2. kalite embriyo ile dejenere embriyo oranları bakımından önemli bir farkın olmadığı belirlendi ($p>0.05$). Buna karşın, dejenere oosit oranları bakımından iki grup arasında önemli bir fark bulundu ($p<0.05$). Omega-3 kaynağı ilave edilen deneme grubunda dejenere oosit sayısı ($n=60$), kontrol grubuna ($n=12$) göre daha yüksek olarak kaydedildi. Deneme grubunda, dejenere oosit sayısının fazla olmasının transfer edilebilir embriyo sayı ve kalitesini olumsuz etkilediği gözlemlendi.

Çalışma sonucunda, omega-3 çoklu doymamış yağ asiti (PUFA) kaynağı ilave edilen rasyonla beslenen donör ineklerde oosit kalitesinde ve transfer edilebilir embriyo sayısında azalma tespit edilmesi, dominant folikül boyutunun artmasından dolayı süperovulasyona alınan cevabın düşebileceği ve / veya ovulasyon gecikmelerine bağlı olabileceği şeklinde yorumlandı. Donör ineklerde doymamış yağ asitlerinin oosit ve embriyo kalitesi üzerine etkilerinin anlaşılabilmesi için bu konuda farklı seviyelerde ve farklı yağ asiti kaynakları ile yapılacak daha fazla sayıda *in vivo* çalışmaya ihtiyaç duyulduğu kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Donör inek, embriyo sayı ve kalitesi, keten tohumu, omega-3, süperovulasyon performansı

ABSTRACT

The Effects of Unsaturated Fatty Acid Supplementation to Ration on Superovulation Performance and Embryo Quality of Donor Cows

This study was conducted to determine the effects of omega-3 (α -linolenic acid) fatty acid supplementation to donor cow rations on superovulation performance, embryo number and quality, and blood-progesterone levels.

The study was carried out with two groups, each consisting of 10 black-and-white breed dairy cows. At the beginning of the experiment, the animals were fed for adaptation to the ration for 10 days. The control group was fed with the basic ration prepared, and the experimental group was fed with the ration added with omega-3 fatty acid 3.77 % level of the basic ration dry matter (KM) for 30 days of the training period. The feed additive used in the trial is an energy-dense commercial product consisting of a combination of rumen protected fat and omega-3 fatty acid-rich flaxseed. This product consist of 50 % crude fat and 166 g/kg C18: 3 n-3 linolenic acid. The superovulation protocol was started at the 40th day of feeding period. Feeding program was continued during superovulation protocol applications. According to the findings of the study; the difference between the groups in terms of response to superovulation was found to be insignificant ($p > 0.05$). Similarly, there was no significant difference in blood progesterone levels between the groups ($p > 0.05$). The difference between the control group and the experimental group in terms of transferable and non-transferable embryo rates were found to be significant ($p < 0.05$). The total number of transferred embryos was determined as 37 in the experimental group and 79 in the control group. The total number of un-transferable embryos was recorded as 78 in the trial group and 43 in the control group. In addition, when compared the numbers of first and second quality embryos and degenerated embryos and degenerated oocytes between control and experimental groups, there were no significant differences in the degenerated embryo rates and the first and second quality embryos ($p > 0.05$). However, there was a significant difference between the two groups in degenerated oocyte ratios ($p < 0.05$). Degenerated oocyte counts ($n = 60$) were higher in experimental group supplemented with omega-3 source than in the control group ($n = 12$). It was observed that the excessive number of degenerated oocytes adversely affected transferable embryo number and quality in the experimental group.

As a result of the study, the decrease in oocyte quality and number of transferable embryos in ration of donor cows fed supplemented with omega-3 polyunsaturated fatty acid (PUFA) source was interpreted as the response to superovulation due to the increase in dominant follicle size and / or may be due to ovulation delays. In order to understand the effects of unsaturated fatty acids on oocyte and embryo quality in donor cows, it has been concluded that there is a need for more *in vivo* work with different levels and different fatty acid sources.

Key words: Donor cow, embryo number and quality, flaxseed, omega-3, superovulation performance

1. GİRİŞ

Dünya genelinde süt ineği yetiştiriciliği yapılan küçük çiftliklerin, özellikle de aile işletmelerinin sayıları azalırken, sürü büyüklüğü ve süt verimleri yüksek hayvanlardan oluşan modern işletmelerin sayısı artmıştır. Bu tip modern ve ekonomik süt ineği işletmelerinde amaç, yılda bir buzağı ve maksimum süt verimi elde etmektir. Son 50 yılda süt sığırcılığındaki hızlı genetik ilerleme sonucu hedeflenen yüksek süt verimine ulaşılmıştır (Lucy 2001, Sartori ve ark. 2010). Ancak süt verimlerinde ki artışa paralel olarak döl verimlerin de ise düşme görülmüştür (Butler 1998).

Hayvancılık alanında modern teknolojilerden faydalanarak verimi artırmak ve kısa sürede istenen zamanda ve sayıda üstün nitelikli yavrular elde edebilmek için, suni tohumlama, seksüel siklus sinkronizasyonu, embriyo nakli ve embriyoların dondurulması, ikizlik oranının artırılması, embriyoda veya spermada cinsiyet tayini gibi bir takım yöntemler gittikçe yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır. İster birim hayvan başına verimi artırmak, ister mevcut hayvanların verimlerini koruyup sürekliliğini sağlamak konusunda olsun, uygulanan bu biyoteknolojik yöntemlerin ana amacı üstün erkek ya da dişi genotipinin yaygınlaştırılmasıdır (Akyol 2001).

Hayvan ıslahında başarının artırılmasında kullanılan modern tekniklerden biri de embriyo transferidir (Bülbül ve Dursun 2005). Birtakım biyolojik işlemler dizisi olan embriyo transferi uygulamalarının en önemli amacı; üstün nitelikli hayvanlardan, sağlıklı ve genetik kapasitesi yüksek yavruların doğmasını sağlayacak, yüksek kaliteli oosit ve embriyo elde etmektir (Santos ve ark. 2008). Normal şartlarda bir inekten yılda bir yavru alınabilir iken, embriyo transfer ile yaşamı boyunca elde edilebileceği yavru sayısının en az 5 katı yavru elde edilebilmektedir (Seidel ve Seidel 1991, Tekeli 2010).

Embriyo transferindeki başarı; donör hayvanın süperovulasyona cevabı ve elde edilen embriyo sayısı ve kalitesine bağlıdır. Süperovulasyon uygulaması sonucunda ovaryumda birden fazla folikülün gelişmesi, bu foliküllerin ovulasyonu ve oositin fertilizasyonunun şekillenmesi, kaliteli embriyoların elde edilmesi amaçlanır (Bülbül ve Dursun 2005).

Süperovulasyon başarısını ve dolayısıyla oosit ve embriyo kalitesini etkileyen birçok faktör vardır (Hasler 2004). Bunlar, hayvan (yaş, ırk, genetik, laktasyon durumu

vb.), uygulanan ilaçlar, foliküllerin durumu, beslenme durumu ve diğer çevresel faktörler (sıcaklık, bakım vb.) (Bülbül ve Dursun 2005, Kaymaz 2015) olarak sayılabilir.

Beslenmeye bağlı faktörler, üreme performansını doğrudan etkileyebildiğinden ve diğer faktörlerin etkilerini değiştirebilme özelliğine sahip olduğundan belki de en önemlisidir (Smith ve Akinbamijo 2000). Nitekim birçok çalışmada donör ineklerde beslemenin, süperovulasyona yanıt ile embriyo sayı ve kalitesi üzerine etkisinin olduğu bildirilmiştir (Boland ve Lonergan 2003, Santos ve ark. 2008, Sartori ve ark. 2010, Wrenzycki ve ark. 2000). Süperovulasyon uygulamasından sonra, oosit ve embriyo kalitesinin, donör ineklerin beslenme durumundan, besleme yönetimi ve yemleme teknikleri ve kaba yem kalitesinden belirgin şekilde etkileneceği belirtilmiştir (Takahashi ve ark. 2013).

Rasyonun enerji, protein, vitamin ve mineral madde içeriği üreme performansını doğrudan etkileyen besin öğeleridir. Bunların organizmaya alınma düzeyleri, tüketilen formları ve biyolojik yarayışlılıkları ile üreme performansı arasında yakın ilişki vardır (Robinson ve ark. 2006).

Rasyonun enerji içeriği, süt verimini, canlı ağırlığı ve buna bağlı olarak vücut kondisyon skorunu (VKS) ve üreme işlevini etkileyen en önemli besinsel faktördür (Boland ve Lonergan 2003). Döl verimi bozuklukları, süt üretiminde özellikle de erken laktasyonda meydana gelen negatif enerji dengesi aşamasında önemli bir sorundur. Bu dönemde enerji durumunu ve böylece reproduktif performansı iyileştirmenin bir yolu, yağ ilavesi ile rasyonların enerji yoğunluğunu artırmaktır (Staples ve ark. 1998).

Süt ineklerinde yağ ilavesinin (rasyon kuru maddesinin yaklaşık % 3'ü düzeyinde) üreme durumunu genellikle olumlu etkilemiştir. Bu etkiler; ovaryum foliküllerinin sayısında, boyutunda ve plazma progesteron konsantrasyonunda artmayı, prostaglandin salgısında azalma, korpus luteumun ömründe uzama ve fertilitedeki iyileşmeyi içermektedir (Staples ve ark. 1998). Bilby ve ark. (2006a) süt sığırlarında yağ ilavesinin folikül, oosit, embriyo ve uterus üzerinde yararlı etkileri olduğunu bildirmiştir.

Son yıllarda, yağ ilavesinin döl verimi üzerine olan olumlu etkilerinin ineklerin enerji durumlarındaki iyileşmeden değil, spesifik yağ asitlerinin yüksek miktarlarda kullanılmasından kaynaklandığı kabul edilmektedir (Leroy ve ark. 2013, Mattos ve ark. 2000). Ayrıca, omega-6 ve omega-3 çoklu doymamış yağ asitlerinin, yumurtalıkta foliküler büyüme ve endometriyumda, steroid sentezi ile prostaglandin metabolizmasını

değiştirdiği bildirilmiştir (Leroy ve ark. 2013). Bilby ve ark. (2006a) tarafından özellikle farklı yağ asiti kaynaklarının değişen konsantrasyonlarda, rasyonlara çeşitli yağ kaynağı olarak ilave edilmesinin genel olarak gebelik oranlarını iyileştirdiği bildirilmiştir.

Yağ asitlerinin üreme üzerine 2 ana görevi vardır. Bunlardan birincisi; progesteron hormonunun preküsörü olan kolesterolün ve ikincisi de prostaglandin hormonlarının (PGF2 α ve PGE2) preküsörü olan arahidonik asitin ön maddeleri olmasından kaynaklanmaktadır (Mattos ve ark. 2000, Zachut ve ark. 2010). Ayrıca yağ asitleri, hücre zarının bileşimini, dolayısıyla membran akışkanlığını değiştirerek üreme ile ilgili dokuların işlevlerini etkileyebilmektedir. Membran akışkanlığı hücrede besinler ve diğer biyolojik faktörlerin geçişini etkileyebilmekte ve bu şekilde dokuların fizyolojik fonksiyonları etkilenmektedir (Zachut ve ark. 2010).

İneklerde rasyona çoklu doymamış yağ asiti (PUFA) ilavesinin döl verimini etkileyebileceği birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Bilby ve ark. 2006a, Leroy ve ark. 2013, Mattos ve ark. 2000, Robinson ve ark. 2002, Santos ve ark. 2008).

Çoklu doymamış yağ asitleri; prostaglandin üretiminin engellenmesi ve uyarılmasında önemli bir rol oynar (Staples ve ark. 1998), ovaryum fonksiyonlarını ve folikül gelişimini etkiler (Thatcher ve ark. 2004), oosit kalitesini iyileştirir (Fouladi-Nashta ve ark. 2007) ve doğumdan sonra ilk tohumlamada gebe kalma oranını artırır (Thatcher ve ark. 2006).

Kolesterol, progesteronun temel ön maddesidir (Mattos ve ark. 2000). Linolenik asit de kolesterolün ön maddesi olmasından dolayı progesteron sentezinde rol oynamaktadır. Nitekim linolenik asit (omega-3) yönünden zengin rasyonlarla beslenen ineklerde kan progesteron düzeylerinde artışlar görülmüştür. Progesteron hormonu korpus luteumdaki luteal hücreler tarafından sentezlenmekte ve embriyonun implantasyonu için uterusun hazırlanması ve gebeliğin devamlılığının sağlanmasında önemli rol oynamaktadır. (Grummer ve Carroll 1991). Ayrıca süperovulasyon uygulaması boyunca yüksek progesteron konsantrasyonunun süperovulasyon sonrası 7. günde toplanan embriyo kalitesini artırdığı yapılan bir çalışmada rapor edilmiştir (Rivera ve ark. 2011).

Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Hayvancılık Bölümü, Hayvancılık İşletmesi'nde hâlihazırda DPT tarafından desteklenen Anadolu Alacası Geliştirme Projesi yürütülmektedir (Anonim 2001). Bu proje kapsamında ülke koşullarına uygun test edilmiş boğalar geliştirmek, kaliteli sperma üretiminde dışa bağımlılığı azaltarak kısa sürede

verimde genetik ilerleme sağlamak amaçlanmaktadır. Proje uygulamasında donör hayvanlar süperovulasyon protokollerine tabi tutularak embriyo elde edilmektedir. Embriyolar uygun mediumlar içerisinde mikroskop altında, kalitelerine göre ayrılarak sınıflandırılmaktadır. Kaliteli embriyolar taşıyıcılara transfer edilerek birden çok yavru elde edilmektedir. Çalışma kapsamında, donör ineklere uygulanan süperovulasyon protokollerinde ovulasyon sorunları, süperovulasyona cevap vermeme, foliküler kist oluşumu ve elde edilen dejenere embriyo sayısının fazla olması karşılaşılan problemler arasındadır.

Mevcut durum göz önünde bulundurulduğunda, bu çalışmada, donör ineklerin rasyonuna ilave edilen omega-3 (linolenik asit) yağ asit kaynağı ile progesteron ve prostaglandinlerin sentezinin düzenlenerek folikül gelişiminin sağlanması, ovulasyon bozukluklarının ve foliküler kistlerin önlenmesi ve bunlara bağlı olarak süperovulasyon performansı ve elde edilecek olan embriyoların kalite ve sayısının artırılması amaçlanmıştır.

Süt sığırlarında beslemenin döl verimi üzerine etkisi ile ilgili çok sayıda bilimsel çalışma bulunmasına rağmen, donör ineklerde süperovulasyon cevabı, oosit ve erken embriyo gelişimi ve kalitesi ile embriyo transferi sonrası gebe kalma gibi temel konular üzerinde beslemenin ve belirli besin maddelerinin rolü ve etkileri hakkında kısıtlı bilgi bulunmaktadır (Santos ve ark. 2008). Bu tez çalışmasının amaçlarından biri de; donör ineklerde beslenme ve döl verimi ilişkisi üzerine ilgili literatüre katkı sunmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Embriyo Transferi

Süt sığırlarında hızlı genetik ilerlemeyi sağlamanın ve sürü içerisinde seçkin dişi ve erkek hayvanların sayısını artırmanın yollarından biri de embriyo transfer uygulamalarıdır (Akyol 2001, Pabuçcuoğlu 2013, Seidel ve Seidel 1991, Tekeli 2010).

Embriyo transferi, donör (verici) olarak kullanılan dişinin genital kanalından kazanılan embriyo ya da embriyoların, bir ya da daha çok sayıda sinkronize edilen ve taşıyıcı olarak kullanılacak olan dişiye transfer edilmesi işlemidir (Kanagawa ve ark. 1995, Seidel ve Seidel 1991). Bir diğer tanım ise; genetik kapasitesi ve verim düzeyleri belirlenmiş olan elit (seçkin) inek ve boğalardan elde edilen embriyoların taşıyıcı ineklere nakledilmesi işlemine verilen isimdir (Kaymaz 2015).

Yapılan tanımlardan da anlaşılacağı üzere; birtakım biyolojik işlemler dizisi olan embriyo transfer uygulamalarının temel amacı, üstün niteliklere sahip ineklerden elde edilecek yavru sayısını artırmaktır. Normal şartlarda bir inekten yılda bir yavru alınabilir iken, embriyo transferi ile yaşamı boyunca elde edilebileceği yavru sayısının en az 5 katı yavru elde edilebilmektedir (Akyol ve ark. 2004, Hızlı ve ark. 2012, Seidel ve Seidel 1991).

Embriyo transfer uygulaması ilk defa 1890 yılında Heape tarafından Büyük Britanya'da tavşanlar üzerinde yapılmış ve dört yavru alınmıştır. Warnwic ve Berry 1949'da koyun ve keçilerde, Lopyrin ve ark. 1950'de koyunlarda, Kvensnickii ise 1951'de domuzlarda ilk başarılı embriyo transfer işlemlerini bildirmişlerdir (Kanagawa ve ark. 1995, Kaymaz 2015). İneklerdeki ilk embriyo transferi uygulaması, Willet ve ark. tarafından 1951 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde, Cornell Üniversitesi'nde başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir (Kanagawa ve ark. 1995).

Ülkemizde ilk embriyo transfer uygulamalarından biri de, 1985 yılında İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. İrfan Kamuran İleri tarafından gerçekleştirilmiştir (Sağırkaya 2009). 1960 yıllarına kadar embriyo kazanımı cerrahi yöntemle yapılırken, 1964 yılında Japon bilim adamı Suggie tarafından ilk defa cerrahi olmayan metot kullanılmıştır. Daha sonra 1965 yılında Suggie metodu olarak bilinen ve günümüzde de halen kullanılmakta olan servikal yöntemin geliştirilmesiyle birlikte

embriyo transfer çalışmaları birçok ülkede yaygınlaşmıştır (Kanagawa 1995, Sağırkaya 2009).

Sığırlarda embriyo transferi ve yararları

Embriyo transfer çalışmaları ile;

-Bir inekten yaşamı boyunca elde edilebilecek yavru sayısının en az 5 katı sayıda yavru sadece bir yılda elde edilebilir. Bu şekilde sürü içerisinde yüksek genotipik ve fenotipik kapasiteye sahip yavru miktarı artışı sağlanır (Seidel ve Seidel 1991, Tekeli 2010).

-Cinsiyeti önceden belirlenmiş embriyoların transferi ile doğrudan damızlık olarak kullanılacak dişi yavru elde edilebilir (Pabuçcuoğlu 2013).

-Boğaların değerlendirildiği progeny test yöntemiyle karşılaştırıldığında MOET (multiple ovulasyon ve embriyo transferi) yöntemi kullanılarak, daha kısa sürede damızlık değeri yüksek dişi ve erkek hayvanlar elde edilir. Böylece hayvan ıslahında hızlı genetik ilerleme sağlanır (Seidel ve Seidel 1991).

-Sürü içerisinde hastalık, yaşlılık gibi nedenlerle infertil duruma düşen üstün nitelikli hayvanlardan yavru elde edilebilir (Tekeli 2010).

-Bölgeye adapte olmuş taşıyıcı anneden doğan yavruda pasif immunité yoluyla bölgeye uygun bağışıklık gelişir (Seidel ve Seidel 1991, Tekeli 2010).

-Sıcaklık stresine maruz kalan ineklerde embriyo transferi ile gebe kalma oranları, suni tohumlama ile gebe kalma oranlarına göre daha yüksektir. Bu nedenle sıcak dönemlerde embriyo transfer uygulamasının fertilitéyi artırmak için etkin bir uygulama olduğu bildirilmiştir (Hansen ve Arechiga 1999).

Sığırlarda in vivo embriyo transferi uygulamalarının aşamaları

Sığırlarda *in vivo* embriyo transferi uygulamalarının aşamaları şu şekilde özetlenebilir (Pabuçcuoğlu 2013).

-Verici (donör) ve alıcı (taşıyıcı) hayvanların seçimi yapılır.

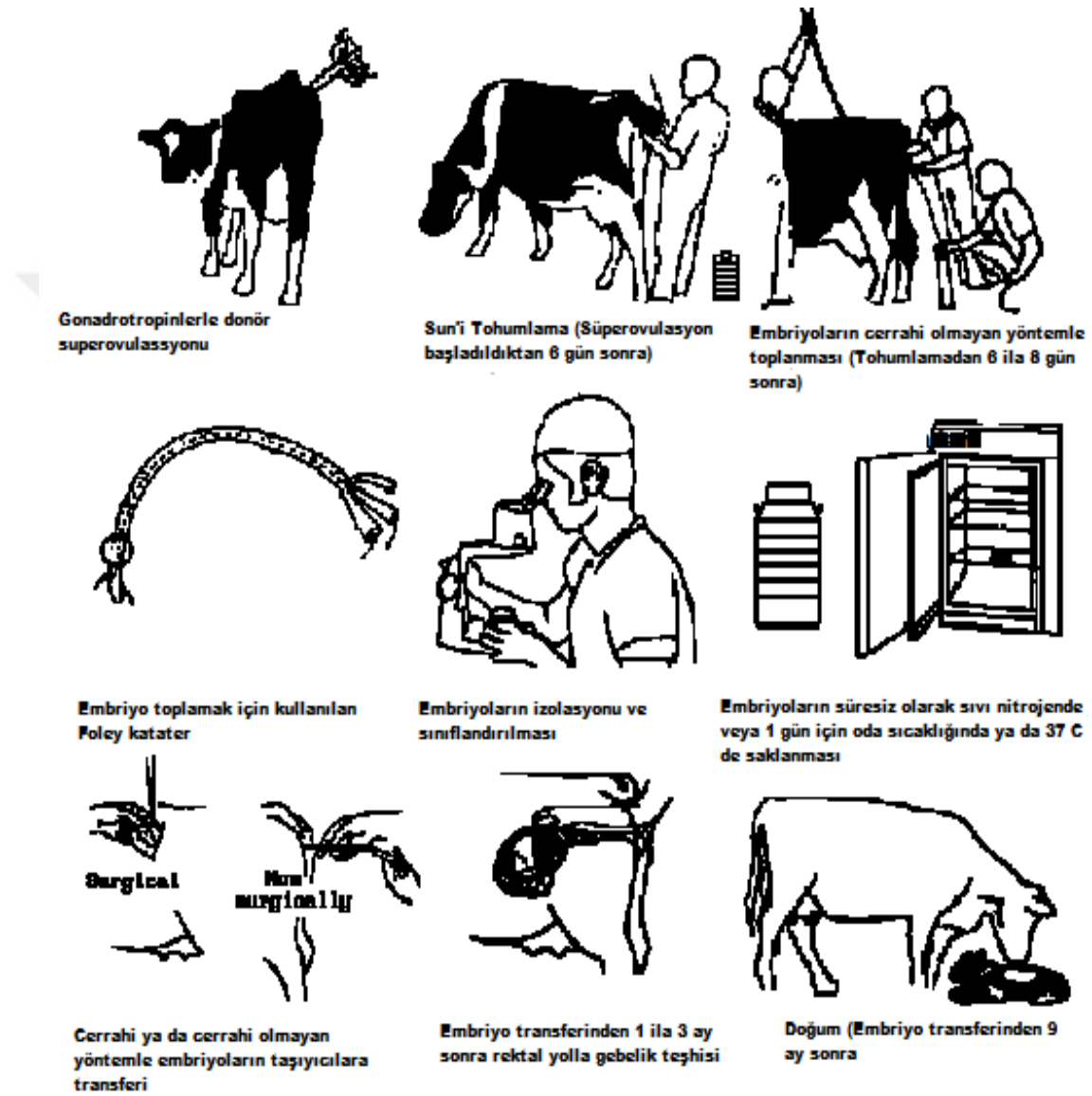
-Taşıyıcı ve donör ineklerde östrus (kızgınlık) sinkronizasyonu yapılır.

-Donör ineklere süperovulasyon protokolü uygulanır. Kızgınlık gösteren donör inekler tohumlanarak ovule olmuş oositlerin fertilizasyonu sağlanır.

-Tohumlamadan sonraki 7. günde uterus yıkaması yapılarak, embriyoların kazanımı sağlanır.

-Elde edilen embriyoların laboratuvar (*in vitro*) ortamında değerlendirme aşamasından sonra transfer edilebilir kalitede olanlar, transfer işlemi için hazırlanır.

-Embriyo transfer kateterine hazırlanan embriyoların taşıyıcı hayvanların uterusuna nakli gerçekleştirilir.



Şekil 2.1.1. Sığır Embriyo Transferinde Genel Prosedür (Ross 1992).

Embriyo transferi uygulamalarının en önemli amacı; sağlıklı ve genetik kapasitesi yüksek yavruların doğmasını sağlayacak üstün nitelikli hayvanlardan yüksek kaliteli oosit

ve embriyo elde etmektir (Santos ve ark. 2008). Bu nedenle embriyo transferinde kullanılacak olan donör ineğin seçimi oldukça önemlidir.

Donör inek seçiminde dikkat edilecek konular:

-Genetik kapasitesi yüksek hayvanlar olmalıdır. Dikkate alınan unsurların başında; süt verimi, süt bileşimi, büyüme oranı, güç doğum ve hastalıklara direnç gelir. Donör hayvan seçiminde bu gibi genetik unsurlar büyük önem taşımaktadır (Sağırkaya 2009, Tekeli 2010).

-BLAD (Bovine Leucocyte Adhesion Deficiency) ve CVM (Complex Vertebral Malformation) gibi kalıtsal hastalık taşınamalıdır (Galli ve ark. 2003).

-Reprodüktif geçmişi iyi olan, düzenli östrus gösteren, uterus ve ovaryum muayenelerinde herhangi bir enfeksiyöz ve patolojik durumu bulunmayan hayvanlar olmalıdır (Seidel ve Seidel 1991, Selk 2006, Tekeli 2010).

-Döl verimini olumsuz etkileyen IBR, BVD, BSE, lökoz, tüberküloz ve bruselloz gibi hastalıkları taşınamalıdır (Kanagawa ve ark. 1995).

-Fertilizasyon oranında ki azalmadan dolayı çok yaşlı hayvanlar kullanılmamalıdır (Kaymaz 2015).

2.2. Süperovulasyon

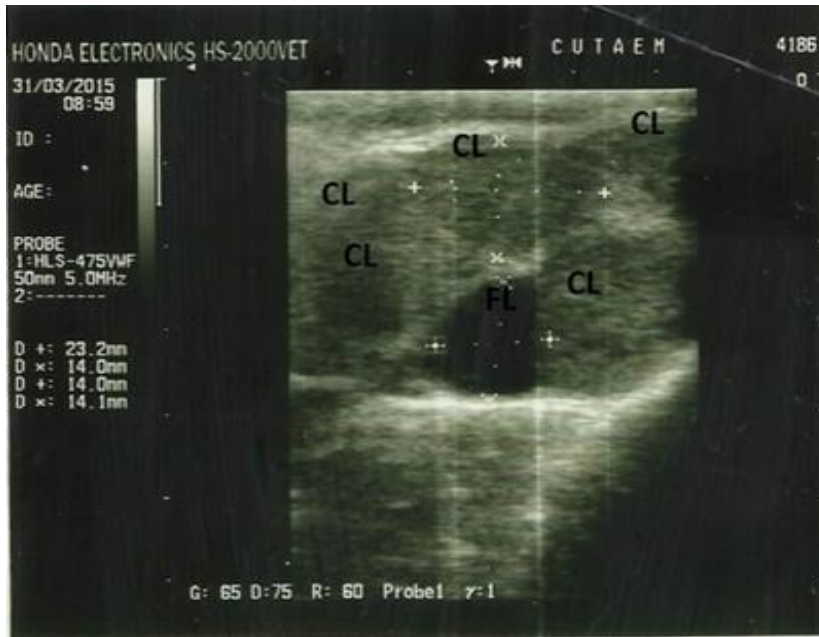
Süt sığırlarında *in vivo* şartlarda yapılan embriyo transferi çalışmalarının en önemli aşamalarından biri süperovulasyon uygulamalarıdır. Çünkü embriyo transferinin başarısı oosit ve embriyo kalitesi kadar süperovulasyon performansına da bağlıdır (Santos ve ark. 2008).

Süperovulasyon; bir östrus (kızgınlık) siklusu döneminde birden fazla sayıda oositin üretilmesi anlamına gelir (Mapletoft 2006, Selk 2006). Bu amaçla süperovulasyon; donör olarak kullanılan dişi hayvanlara gonodotropin hormon, özellikle de FSH (Folikül stimüle edici hormon) enjeksiyonu yapılarak, ovaryumlarında çok sayıda folikül gelişiminin sağlanması ve ovulasyon oluşturulması işlemidir (Akyol 2001, Bülbül ve Dursun 2005, Seidel ve Seidel 1991).

Şekil 2.2.1 ve 2.2.2’de süperovulasyon sonrası ovaryum üzerinde birden fazla sayıda folikülün ovulasyonu sonucu şekillenmiş olan korpus luteum (CL) yapıları görülmektedir.



Şekil 2.2.1. Süperovulasyona Tabi Tutulmuş İnek Ovaryumu (Bülbül ve Dursun 2005).



Şekil 2.2.2. Süperovulasyon Sonrası Ovaryum Görüntüsü* . CL: Korpus Luteum, FL: Folikül.
*Bu tez çalışmasında elde edilmiştir.

Normal koşullarda bir östrus döneminde sadece bir adet embriyo elde etmek mümkün olabilirken (Selk 2006), süperovulasyon uygulamaları ile ortalama 10 adet embriyo üretimi sağlanır ve bunun da yaklaşık % 50'si transfer edilebilir kalitededir (Gordon 2005, Tekeli 2010).

Doğal olarak ineklerden hayatları boyunca 7-8 yavru almak mümkündür. Ancak süperovulasyon sayesinde her uygulamada birden fazla embriyo toplanıp aynı dönemde bir o kadar yavru almak imkân dâhilindedir. Sonuç olarak, süperovulasyon embriyo transferinde önemli bir rol oynamaktadır (Akyol 2001).

Dünyanın gelişmiş ve gelişmekte olan birçok ülkesinde sığırlarda uygulama alanı bulan embriyo transfer uygulaması, maalesef ülkemizde henüz saha şartlarında uygulama alanı bulamamıştır. Yöntemin pahalı olması ve son yıllara kadar büyük kapasitede sütçü işletmelerin olmaması embriyo transfer uygulamasına olan talebin ortaya çıkmasına engel olmuştur (Sağırkaya 2009). Embriyo transferinin maliyetinin azalması ve yaygınlaşması, bir inekten bir defada elde edilebilecek kaliteli embriyo sayısı ile yakın ilişkilidir (Mikkolave ark. 2005).

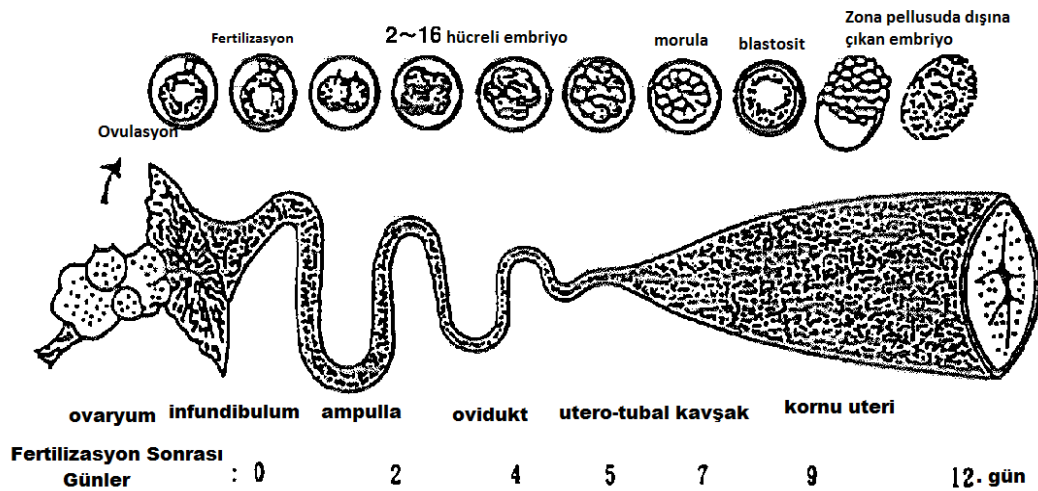
Süperovulasyon uygulamalarındaki amaç; gebe kalma şansı yüksek olan maksimum sayıda transfer edilebilir kalitede embriyo elde etmektir (Novotný ve ark. 2005). Bu amaçla donör ineklerde değişik süperovulasyon protokolleri geliştirilmiştir. Örneğin, östrus siklusunun 8-13. günlerinde FSH hormonu başlanarak ya da siklusun herhangi bir zamanında progesteron salınımı yapan gereç kullanılarak süperovulasyonun başlatıldığı, farklı protokol uygulamaları vardır (Hasler 2006). Uygulanan süperovulasyon protokolleri farklı olmasına rağmen kullanılan hormonlar genellikle aynıdır.

İneklerde süperovulasyon amacıyla kullanılan gonadotropin hormonlar; PMSG (gebe kısrak serum gonadotropini) ve FSH (folikül stimüle edici hormon)'dır (Gordon 2005, Hasler 2006). Fakat PMSG hormonu uzun yarılanma ömrüne sahip olması nedeniyle başarısız ovaryum stimülasyonuna, ovule olmayan foliküllere, anormal endokrin değişikliklere ve düşük kaliteli embriyoların oluşumuna neden olmaktadır. PMSG uygulaması sonrasında farklı büyüklüklerde gelişen foliküllerden ovule olamayanlar östrojen salgılamaya devam ederek (persiste folikül) bu sırada diğer foliküllerden atılan oositlerin yaşamları üzerinde olumsuz etki oluştururlar. Fertilizasyon sırasında salınmaya

devam eden östrojen embriyotoksik olarak adlandırılmaktadır (Kaymaz 2015). Bu yüzden son yıllarda FSH kullanımı PMSG kullanımından daha yaygın hale gelmiştir.

Donör ineklere FSH kullanımı deri altı ya da kas içi yolla 12 saat arayla azalan dozlarda 4 gün boyunca uygulanır. En yaygın kullanılan FSH uygulamasında 6, 6, 4, 4, 2, 2, 2 ve 2 mg dozda FSH 12 saat arayla uygulanır (Mapletoft 2002, Seidel ve Seidel 1991). Süperovulasyon uygulanan ineğin kızgınlığa getirilebilmesi amacıyla, 5. günde luteolitik etkili PGF2 α enjeksiyonu yapılmaktadır. PGF2 α enjeksiyonu 6. ya da 7. FSH uygulaması ile birlikte kas içi uygulanır (Seidel ve Seidel 1991). Ayrıca östrusun herhangi bir zamanında süperovulasyonu başlatabilmek amacıyla, progesteron salınımı yapan gereçler (CDIR, PRID), intravaginal olarak uygulanmaktadır. Bunların dışında tohumlama ile birlikte foliküllerin ovulasyonu için, GnRH (Gonadotropin Releasing Hormon), HCG (Human Korionik Gonadotropini) veya LH (Luteotropik Hormon) enjeksiyonları yapılabilmektedir. Günümüzde östrodiol içeren preparatlar yasaklandığı için süperovulasyon uygulamalarında kullanılmamaktadır.

Donör ineklere tohumlamadan sonraki 7. günde flushing işlemi (uterus yıkama) uygulanarak, embriyo üretimi sağlanır. Embriyoların 0-7. günler arasındaki gelişim alanı ve safhaları şekil 2.2.3'te gösterilmiştir.



Şekil 2.2.3. Sığır Embriyosunun Gelişim Aşamaları (Kanagawa ve ark. 1995).

2.2.1. Süperovulasyonun Başarısını Etkileyen Faktörler

İneklerde embriyo transferinin etkili bir biçimde gerçekleştirilebilmesi, çok sayıda folikül gelişiminin uyarılması, gelişen foliküllerin ovule olması, fertilizasyonun sağlanması, şekillenen embriyoların toplanması ve transfer edilmesi, gebeliğin sağlanması ve sonuçta birçok buzağı elde edilmesine bağlıdır. Süperovulasyon cevabının yüksek olması bahsedilen amaca ulaşmada çok önemlidir. Dolayısıyla embriyo transferi uygulamalarında en kritik noktalardan birisi de süperovulasyondur. Bu nedenle, ineklerde yapılan embriyo transferi çalışmalarında süperovulasyon cevabına etki eden faktörlerin bilinerek olumsuz durumların elimine edilmesi büyük önem taşımaktadır (Bülbül ve Dursun 2005).

Sığırlarda süperovulasyon başarısını ve dolayısıyla oosit ve embriyo kalitesini etkileyen birçok faktör vardır (Hasler 2004, Hasler 2012). Bu faktörler ve etkileri aşağıda özetlenmeye çalışılmıştır.

-*Gonadotropin hormon*: Kullanılan ilacın çeşidi, dozu, uygulama şekli, sıklığı ve periyodu süperovulasyon cevabını etkileyen faktörlerdendir. Son yıllarda süperovulasyon amacıyla, PMSG ve hMG (İnsan Menapoz Gonadotropini) kullanımının yan etkilerinden dolayı, FSH daha sık kullanılmaktadır. PMSG'nin tekrarlı uygulamaları sonrasında (2-4), bu hormona karşı gelişen antikor oluşumundan dolayı ovaryum cevabının azaldığı bildirilmiştir (Kanagawa ve ark. 1995). hMG hormonu kullanımında ise süperovulasyona cevabın yetersiz, özellikle anovulatör (ovule olmayan) folikül sayısının fazla olduğu bildirilmektedir (Akyol 2001). FSH'nin kullanılan doz miktarı hayvanın ırkına ve ağırlığına bağlı olarak, 25 mg ile 50 mg arasında değişmektedir. Örneğin; holştayn ırkında 36-40 mg, güney anadolu kırmızısı, doğu anadolu kırmızısı, yerli kara gibi ırklarda ise 20-28 mg doz FSH kullanılır (Kaymaz 2015, Mapletoft 2006). FSH yarılanma ömrü yaklaşık 2 saattir bu bakımdan tekrarlanan dozlar halinde uygulanması gerekir. FSH'nin biyolojik yarılanma ömrünün kısa olması nedeniyle sabah akşam devam eden uygulamaları yapılmaktadır (Akyol 2001). FSH'nin uygulama şekli, 4 gün boyunca günde iki defa 12 saat arayla, 6, 6 / 5, 5 / 4, 4 / 3, 3 mg veya 4, 4 / 3, 3 / 2, 2 / 1, 1 mg şeklinde azalan dozlarda olmalıdır (Mapletoft 2006). Nitekim araştırmacılar aynı zamanda aynı doz FSH uygulaması ile azalan dozları da mukayese etmişler ve azalan dozların daha iyi sonuç verdiğini görmüşlerdir (Akyol 2001).

-Foliküler dinamik: Foliküler dalga; ineklerin ovaryumlarında çok sayıda folikülün aynı anda gelişmeye başlaması ve bu gelişim sürecinin adeta dalga şeklinde olması nedeniyle, siklusta gözlenen bu toplu folikül gelişim süreci “foliküler dalga” olarak adlandırılır (Kalkan ve Öcal 2015). Süperovulasyon tedavisine alınan cevap; hem gelişmeye başlayan folikül sayısı hem de ovule olan folikül sayısı bakımından farklılık göstermektedir. Bu farklılığın oluşmasında tedavinin uygulanmaya başlandığı günde, foliküler dalganın sergilediği manzara en etkili faktördür (Dinç 2013). Araştırmacılar, süperovulasyon amacıyla gonadotropin uygulamalarına, foliküler dalganın başlangıcında ya da bir gün öncesinde, başlanıldığında süperovulasyon yanıtının iyi olacağını bildirmişlerdir (Mapletoft ve ark. 2002, Merton ve ark. 2003). Bunun nedeni ovaryum üzerinde henüz dominant folikülün oluşmamasıdır. Çünkü bazı araştırmacılar, siklus ortasında FSH uygulamasına başlandığı sırada ovaryumda dominant bir folikülün bulunmasının süperovulasyon cevabını azalttığını bildirmişlerdir (Merton ve ark. 2003). Araştırmacılar, süperovulasyona başlama zamanında ovaryum üzerinde kaliteli bir korpus luteum varlığının önemini de belirtmişlerdir. Süperovulasyon amacıyla kullanılan FSH enjeksiyonlarına başlama zamanında, ovaryum üzerinde kaliteli bir korpus luteum ve küçük foliküllerin varlığının süperovulasyona yanıtı artıracağı bildirilmiştir (Gali ve ark. 2003, Hasler 2004, Merton ve ark. 2003). Süperovulasyon uygulamasına başlanıldığı sırada dominant folikülün uzaklaştırılması elde edilecek embriyo sayısını artırmaktadır (Gali ve ark. 2003, Hasler 2004). Chebel ve ark. (2008) saptamasına göre luteal fazın ortasında (9-13. günler) süperovulasyon uygulamasına başlanması en iyi sonuçları vermektedir. Ayrıca, donör olarak kullanılacak ineğin ovaryumları küçük yapıda ve inaktif olmamalıdır (Kanagawa ve ark. 1995).

-Yaş: Hayvanın yaşlanmasıyla birlikte ovaryumda bulunan oositlerin de yaşlandığı tespit edilmiştir (Kaymaz 2015). 1. veya 2. laktasyonda ki genç ineklerin düvelere ve yaşlı ineklere göre süperovulasyona yanıtları daha yüksektir (Siedel ve Siedel 1991). Kanagawa ve ark. (1995), 10 ve üzeri yaştaki hayvanlarda süperovulasyon cevaplarının oldukça düştüğünü bildirmişlerdir.

-İrk: Süperovulasyona yanıt kullanılan hayvanın ırkına göre değişiklik gösterebilmektedir (Hasler 2012). Ayrıca kullanılacak ilacın dozu ırklara göre farklılık gösterdiği belirtilmiştir. Örneğin; Holştayn ırkı ineklerde 36-40 mg, Brahman ırkı gibi daha küçük ineklerde ise 24-28 mg (Kaymaz 2015) olarak belirtilmiştir.

-Reprodüktif geçmiş: Kullanılacak donör ineğin daha öncesinde fertilité sorunu yaşamamış olmasına dikkat edilmelidir. Bu yüzden reprodüktif kayıtları düzenli tutulmalıdır. İnfertilité sorunu bulunan donör ineklerin süperovulasyon yanıtlarının daha düşük olduğu belirtilmektedir (Kaymaz 2015, Siedel ve Siedel 1991). Döl verimi parametreleri uygun olmayan (bir ya da iki tohumlamada gebe kalmayan, her yıl düzenli doğum yapmayan vb.), östrus siklusları düzensiz, doğum sonrası ketozis, endometritis, retensiyon sekünderiyum ve kistik ovariyum dejenerasyonu gibi benzeri metabolizma ve reprodüktif sorunları olan inekler donör olarak kullanılmaya uygun değildir (Kanagawa ve ark. 1995, Kaymaz 2015, Tekeli 2010). Ayrıca süperovulasyon uygulamasına başlanılmadan önce verici (donör) hayvanlarda birbirini izleyen en az iki siklus gözlenmelidir (Tekeli 2010).

-Canlı ağırlık: İneğin canlı ağırlığı dozlama açısından önemlidir (Kaymaz 2015). Örneğin, canlı ağırlığı 800 kg'dan fazla olan hayvanlarda, kullanılan FSH dozu % 20 oranında artırılmalıdır (Seidel ve Seidel 1991). Embriyo transfer çalışmaları esnasında donör inek uygun bir vücut kondisyon skoruna (VKS) sahip olmalıdır. Çünkü kaşektik veya obez hayvanlarda fertilité sorunlarından dolayı süperovulasyona yanıt düşük olacaktır (Selk 2006). Bu dönemde hayvanlar kilo kaybetmemeli, hatta yağlandırılmadan ağırlık artışı sağlanmalıdır (Seidel ve Seidel 1991, Tekeli 2010).

-Laktasyon durumu: Donör ineğin laktasyon durumu ile ilgili farklı görüşler vardır. Hasler (2006), laktasyondaki ineklerden, kurudaki ineklere göre daha fazla sayıda transfer edilebilir embriyo elde edileceğini belirtmiştir. Fakat Chebel ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada kurudaki donör ineklerden, laktasyondaki donör ineklere göre daha fazla sayıda transfer edilebilir embriyo üretildiğini rapor etmişlerdir. Santos ve ark. (2008), laktasyonda olmayan ineklerin süperovulasyon yanıtları ile oosit gelişimi ve embriyo kalitelerinin daha iyi olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca laktasyonda olmayan ineklerin orta derecede yetersiz beslenmeleri durumunda dahi embriyo kalitelerinin daha az etkileneceğini belirtmişlerdir. Laktasyondaki dönör olarak kullanılacak inek, doğum sonrası en az 50. günde olmalıdır (Selk 2006). Laktasyonun 30 ile 40. günleri arasında süperovulasyon uygulamasına başlanılan ineklerde cevabın düşük olduğu bildirilmektedir (Kanagawa ve ark. 1995).

-Bireysel durum: Her hayvanın süperovulasyona cevabı farklılık gösterebilmektedir. Araştırmacılar donör olarak kullanılan her dört hayvandan birinin

süperovulasyona cevap vermediğini belirtmişlerdir (Gordon 2005, Hasler 2004, Siedel ve Siedel 1991). Bu durum embriyo transferinin en büyük dezavantajıdır.

-Besleme: Süperovulasyon uygulamasından sonra, oosit ve embriyo kalitesi donör ineklerin beslenme durumundan, kaba yem kalitesinden ve beslenme yönetimi tekniklerinden belirgin şekilde etkilenir (Takahashi ve ark. 2013). Birçok çalışmada donör ineklerde beslemenin, süperovulasyona yanıt ile embriyo sayı ve kalitesi üzerine etkisinin olduğu belirtilmiştir (Boland ve Lonergan 2003, Santos ve ark. 2008, Sartori ve ark. 2010, Wrenzycki ve ark. 2000).

Donör ineklerin yeterli ve dengeli beslenmeleri gerekir. Donör ineklerin yetersiz beslenmesi, ovaryumda foliküllerin gelişimlerini olumsuz etkileyerek, süperovulasyon cevabı ve embriyo kalitesinin düşmesine yol açabilmektedir (Santos ve ark. 2008). Ayrıca yetersiz beslenen ineklerde süperovulasyon uygulaması sonucu kistik ovaryum problemi ile karşılaşılabilir (Kanagawa ve ark. 1995).

Doğum sonrası laktasyondaki ineklerin yetersiz beslenmesi veya gerekli besin maddelerini yeterince tüketememesi sonucu ovaryum aktivitesinin yeniden başlamasında ve ovulasyonda gecikme, folikül sayısında azalma ve oosit kalitesinde düşme meydana gelebilir (Santos ve ark. 2008). Yaakub ve ark. (1999) tarafından, yem alımındaki artma ve rasyondaki NFC (lifli olmayan karbonhidrat) artışının süperovulasyon başarısını etkilediği bildirilmiştir. Yaakub ve ark. (1999)'nın düvelerle yaptıkları embriyo transfer çalışmalarında bir grup 3 kg konsantre yem ile beslenirken, diğer grup ad libitum yüksek enerjili rasyonla beslenmiştir. Gruplar arasında süperovulasyona yanıtları bakımından fark bulunmamıştır. Fakat 3 kg konsantre yem ile beslenen grupta dondurulabilir embriyo (1. ve 2. kalitede embriyo) ile transfer edilebilir embriyo (1., 2., ve 3. kalitede embriyo) sayıları ad libitum beslenen gruba göre daha yüksek bulunmuştur. Bu nedenle aşırı enerji alımı da embriyo gelişimini olumsuz etkileyebilmektedir (Wiltbank ve ark. 2014).

2.3. Donör İneklerde Döl Verimi ve Beslenme İlişkisi

Döl verimi, modern süt işletmelerinin kârlılık ve başarısını belirleyen ana faktörlerden biri haline gelmiştir. Çünkü sürünün devamı ve süt verimi ancak optimum döl verimi ile sağlanabilir.

İneklerde fertilitte; dölveriminin fizyolojik ve ekonomik sınırlar içinde devamlılığı olup, infertilite ise döl veriminin aksamaması, yani doğum ile yeni bir gebeliğin şekillenmesi arasındaki sürenin uzamasıdır. Süt sığırcılığı yapılan işletmelerde, doğumlar arasındaki sürenin 400 günü aşması, doğum-gebelik arası sürenin 120 günden uzun, ilk tohumlamada gebelik oranının % 50 den düşük, buzağı başına gereken tohumlama sayısının 2 den fazla olması ve bir işletmedeki hayvanların en az üçte birine buzağı başına 3 ten fazla tohumlama uygulanması, sürüde infertilite sorununun bulunduğu göstergelerindedir (Alaçam 2010, Ata 2013, Bekyürek 2010, Hutchinson 2007, Rogers 2007).

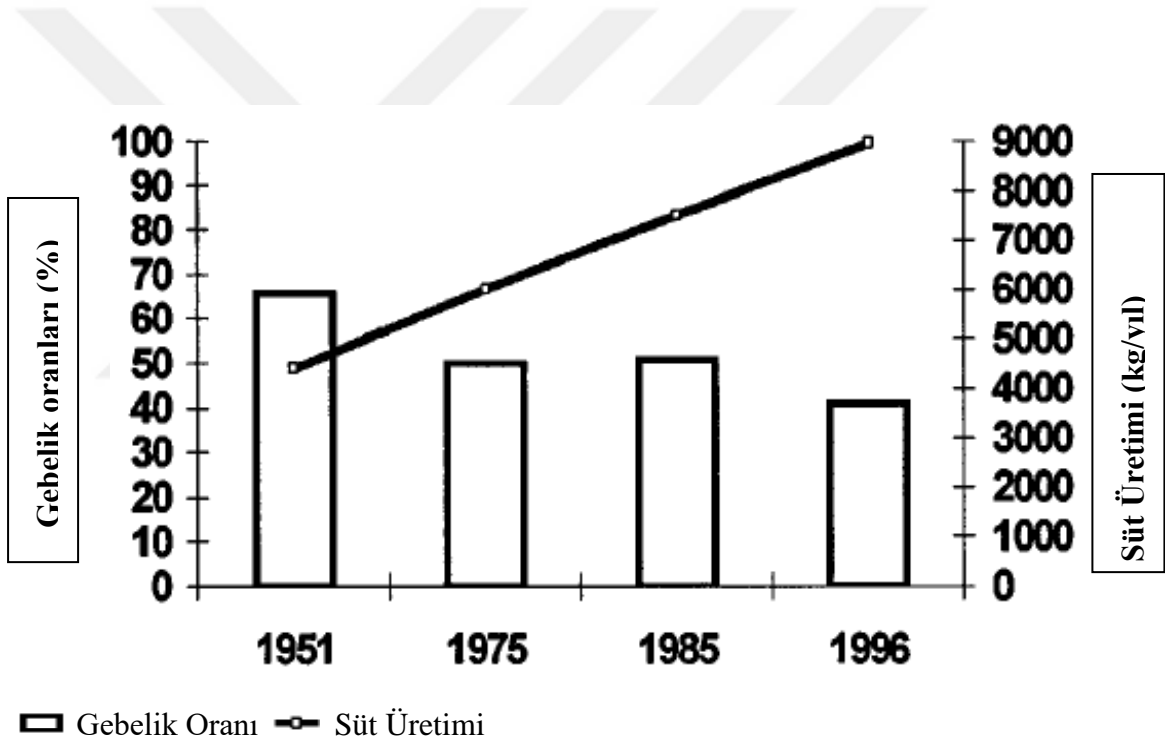
Süt ineği yetiştiriciliği yapılan işletmede döl verimi sorunu olup olmadığını gösteren en önemli parametreler Çizelge 2.3.1’de sunulmuştur.

Çizelge 2.3.1. İşletmelerde Hedeflenen Önemli Döl Verimi Parametreleri (Bekyürek 2010).

Parametreler	Hedef	Ekonomik Tolerans
İlk Çiftleşme Yaşı	13-15 ay	14-20 ay
İlk Buzağılama Yaşı	22-25 ay	23-30 ay
Gebelik Süresi	282 gün	Irklara göre farklı
Laktasyon (Sağım Dönemi)	305 gün	300-320 gün
Kuru Dönem	60 gün	42-75 gün
İki Doğum Aralığı	365 gün	<400 gün
Doğumdan Sonra İlk Kızgınlık	<45 gün	<60 gün
Doğumdan Sonra İlk Tohumla	45-60 gün	<60 gün
İlk Tohumlamada Gebelik	% 60	>% 55
Gebelik Başına Tohumlama	1.65	<2
Kızgınlıkların Belirlenme Oranı	% 80	% 70
Gebelik Başına Üçten Fazla Tohumlama Düşen İnek Oranı	<% 1.6	
Doğum Sonrası 60. Güne Kadar Kızgınlık Gösteren İnek Oranı	% 85	
Döl Verimi Düşüklüğü Nedeniyle Zorunlu Kesim	% 5	<10

Modern ve ekonomik süt ineği işletmelerinde, yılda bir buzağı ve maksimum süt verimi elde etmek amaçlanır. Günümüzde süt sığırcılığı işletmelerinde Çizelge 2.3.1’de belirtilen parametrelere ulaşmak oldukça güç duruma gelmiştir. Son 50 yılda süt sığırcılığındaki hızlı genetik ilerleme sonucu hedeflenen yüksek süt verimine ulaşılmıştır

(Lucy 2001, Sartori ve ark. 2010). Ancak süt verimlerinde ki artışa paralel olarak döl verimlerin de ise düşme görülmüştür (Butler 1998) (Şekil 2.3.1.). Buna bağlı olarak iki doğum aralığı uzamış olup, yüksek verimli bir inekten yılda bir yavru alınamaz olmuştur. Bu da sürü içerisinde hızlı genetik ilerleme sağlamayı olumsuz etkilemiştir. Bu olumsuzluklar karşısında embriyo transferi önem kazanmıştır. Daha önce de açıklandığı üzere, embriyo transferinde beklenen yararlardan biri de sürü içerisinde yüksek genotipik ve fenotipik kapasiteye sahip yavru miktarını artırarak, hızlı genetik ilerleme sağlamaktır (Pabuçcuoğlu 2013, Seidel ve Seidel 1991, Tekeli 2010).



Şekil 2.3.1. Holştayn Süt Sığırlarında Gebelik Oranları ve Süt Verimi Arasındaki Ters İlişki (Butler 1998).

Süt ineklerinde süt üretimi kapasitesinin artışı, döl verimi düşüşü ile ilişkili bulunmuştur (Butler 2003). Fakat Lucy (2001), son yıllarda döl verimindeki azalmanın sadece süt verimindeki artışa bağlı olmayıp, buna birçok faktörün neden olduğunu belirtmiştir.

Süt sığırlarında döl verimi genetik ve çevresel faktörlerin etkisi altındadır. Üreme ile ilgili özelliklerin kalıtım derecesi (<0.10) düşük olduğu için üreme faaliyeti çoğunlukla

çevre koşullarının, ağırlıklı olarak da yem ve beslenme ile ilişkilidir (Ergün ve Erdoğan 2001a, Görgülü ve ark. 2011, Hayırlı ve Çolak 2011, Santos 2008).

Beslenme, ineklerin reproduktif performansını etkileyen en önemli faktörlerden biridir (Kalkan ve Öcal 2015). Robinson ve ark. (2006) ruminantlarda beslemenin döl verimini doğrudan veya dolaylı olarak etkilediğini belirtmiştir. Beslemenin fertilité üzerine doğrudan etkilerinin; oosit ve sperm gelişimi, ovulasyon, fertilizasyon, embriyonun sağkalımı, gebeliğin korunması ve devamı, süreçleri için gerekli olan özel besin kaynaklarının kullanımı ile oluştuğunu vurgulamıştır. Robinson ve ark. (2006) beslemenin fertilité üzerine olan dolaylı etkilerini ise; döl verimindeki iyileşme için gerekli olan besin maddelerine duyarlı hormon ve metabolitlerin dolaşımdaki konsantrasyonları üzerine etkisinden kaynaklandığını belirtmişlerdir.

Beslenmeye bağlı faktörler, üreme performansını doğrudan etkileyebildiğinden ve diğer faktörlerin etkilerini ayarlayabilme potansiyeline sahip olduğundan belki de en önemlisidir. Bu nedenle süt ineklerini yeterli ve dengeli besleme, genetik potansiyellerine ulaşmalarını sağlayabilir, fiziksel çevrenin negatif etkilerini azaltabilir ve yetersiz bakım tekniklerinin etkilerini en aza indirebilir (Smith ve Akinbamijo 2000).

Beslemeye bağlı yetersizlik ve dengesizlikler, genellikle döl verimi düşüklüğüne yol açmaktadır. Yüksek süt verimi, yemle alınan enerjinin düşük olması, vitamin mineral yetersizlikleri, yetersiz ya da aşırı protein tüketimi beslenmeye bağlı döl verimi düşüklüğünün başlıca nedenleri arasındadır (Butler ve Smith 1989).

Süt sığırlarında bakım ve beslemeye bağlı hatalar, kızgınlık, ovulasyon, fertilizasyon ve gebelik gibi üreme ile ilgili parametreleri olumsuz yönde etkileyerek, düzensiz östrus, anöstrus, gebelik başına düşen tohumlama sayısının artması, fertilizasyonun şekillenmemesi, erken embriyonik ölümler, hormonal bozukluk ve ovulasyonun geç şekillenmesi gibi döl verimi sorunlarına neden olur (Santos 2008, Tuncer 2008, Yavuz 2001).

Başta enerji ve protein yetersizliği olmak üzere çok sayıda mineral ve vitaminin yetersizlik ve dengesizlikleri ile rasyonda yüksek protein oranı, üreme bozukluklarının önemli nedenleri arasındadır. Yine aynı şekilde doğum öncesi kuru dönemde ve sonrasında yetersiz ya da aşırı beslenme ve bunun yol açacağı metabolik hastalıklar (hipokalsemi, ketozis, karaciğer yağlanması vb) döl verimi üzerinde oldukça önemli etkilere sahiptir (Ergün ve Erdoğan 2001b, Studer 1998, Tuncer ve ark. 2008, Yavuz 2001).

Sığır rasyonlarındaki konsantre yem çeşidi ve miktarı, süperovulasyon uygulamaları sonucu elde edilen transfer edilebilir embriyoların daha sonraki verimini etkileyecektir (Yaakub ve ark. 1999). Nolan ve ark. (1998)'nin çalışmalarında baskın olarak narenciye ve pancar küspesinden oluşan kısıtlı konsantre yem ile beslenen düvelerden elde edilen transfer edilebilir embriyolar, arpa yönünden baskın olan veya ad libitum konsantre yem ile beslenen diğer gruplarla karşılaştırılmıştır. Süperovulasyon sonrası elde edilen embriyolar 24 saat boyunca kültür edildikten sonra 7. günde toplanarak incelenmiştir. Çalışma sonucunda düvelerde kısıtlı konsantre yem ile beslemenin embriyo gelişimi üzerine olumlu etkilerinin olduğu rapor edilmiştir. Dunne ve ark. (1997), sığırlarda besin alımındaki kısa süreli kısıtlamaların sonraki gebelik oranlarını artırdığını bildirmişlerdir. Yaakub ve ark. (1999) çalışmalarında ad libitum ve sınırlı seviyede konsantre yem ile beslenen düvelerin süperovulasyon uygulaması sonrası karşılaştırıldığında, ad libitum konsantre yem ile beslenen grupta transfer edilebilir embriyo sayısının önemli ölçüde azaldığını bildirmişlerdir.

Embriyo gelişimi üzerine beslemenin etkisi belirgindir. Ancak bu etkinin meydana geldiği nokta henüz bilinmemektedir. Yaakub ve ark. (1997) koyunlarda yüksek düzeyde glukoz infüzyonu sonrası süperovulasyon uygulandığında, kaliteli embriyo veriminde azalma olduğunu bildirmiştir. Glukozun embriyo gelişimi üzerine olan bu etkisinin nedeni açık değildir. Fakat bu etkinin pre-ovulatör folikül gelişimi, oosit gelişimi ya da erken embriyo gelişimi sırasında, yüksek plazma glukoz konsantrasyonlarının hücre sinyal mekanizmalarını engellenmesi nedeniyle olabilir (Boland ve Lonergan 2003).

Besleme ile üreme arasında son derece karmaşık bir ilişki bulunmakta olup, süt sığırlarının beslenmesinde enerji-protein, mineral-vitamin dengesinin iyi kurulması, tüketilen yemlerin miktar ve kalitesinin iyi bilinmesi üreme performansının iyileştirilmesinde en önemli faktördür (Ergün ve Erdoğan 2001a, 2001b).

Rasyonun enerji, protein, vitamin ve mineral madde içeriği üreme performansını doğrudan etkileyen besin öğeleridir. Bunların organizmaya alınma düzeyleri, tüketilen formları ve biyolojik yarayışlılıkları ile üreme performansı arasında yakın ilişki vardır (Robinson ve ark. 2006).

2.3.1. Enerji ve Döl Verimi İlişkisi

Enerji süt sığırlarında üremeyi etkileyen, beslemeye bağlı kritik besin ögesidir. Rasyonun enerji içeriği, süt verimini, canlı ağırlığı ve buna bağlı olarak vücut kondisyon skorunu (VKS) ve üreme işlevini etkileyen en önemli besinsel faktördür (Boland ve Lonergan 2003).

Rasyonla yetersiz ya da ihtiyaçtan fazla enerji alımı döl verimini olumsuz etkiler. Beslenmeye bağlı infertilite olgularının en sık rastlanılanı rasyonda enerji eksikliğidir (Pryce ve ark. 2004). İneklerde şiddetli enerji eksikliği inaktif ovaryum gibi döl verimi sorunlarına neden olur. Diğer yandan, kurudaki ve laktasyonun sonundaki ineklerin aşırı enerji tüketmesi ise güç doğumlara ve metabolik hastalıklara yol açar. Bu durum gelecek laktasyonda, üreme performansını düşürür. Dövelerin yetersiz enerji tüketmesi durumunda ise, cinsel olgunluğa daha geç ulaşmakta, kızgınlık siklusu bozulmakta veya tamamen durmaktadır (Alaçam 2010).

Donör ineklerin rasyonunda enerji düzeyinin artması, ovulasyona olan cevabın azalmasına ve süperovulasyon sonrası daha az kullanılabilir embriyo elde edilmesine neden olmaktadır (Santos ve ark. 2008). Thomas ve ark. (1997) fazla yem tüketimi sonrası sindirim kanalında yüksek kan dolaşımı, karaciğerde östrojen ve progesteronun yıkımında artma, dolaşımda düşük düzeyde östrojen ve progesteronun bulunması sonucu üremede değişikliklerin meydana geldiğini belirtmişlerdir. Yem alımındaki artışın veya rasyonda lıfsız karbonhidratların artmasının insülini, progesteronu ve süperovulasyon başarısını değiştirdiği bulunmuştur. Fazla enerji tüketimi embriyo gelişimini etkileyebilir, folikülün ve oositin aşırı uyarılmasına yol açabilir ve embriyo kalitesini azaltabilir. Fazla yem alımında progesteron konsantrasyonları da düşebilir. Süperovulasyon sırasında progesteron konsantrasyonlarının artması embriyo kalitesini ve nakledilebilir embriyoların sayısını artırmaktadır. Düşük progesteron, fertilitesi azalmış oositin ovulasyonuna, mayoz bölünmenin zamanından önce başlamasına ve LH salınımında artışa neden olmaktadır. Erken laktasyon döneminde fazla miktarda yem verilen sütçü ineklerde 7. günden sonra embriyo kalitesi azalmıştır. Bu yüzden, aşırı yem tüketimi embriyoların gelişim kapasitesi üzerinde negatif bir etki gösterir. Beslenmenin etkisi muhtemelen oositlerin fertilizasyonundan önce erken gelişim evresinde ortaya çıkmaktadır (Hiçcan ve Yıldız 2016).

Fazla yem tüketiminin aksine uzun veya orta süreli ya da rasyondaki kronik enerji yetersizliği dominant folikülün gelişme hızı, en büyük çapa ulaşması ve devamlılığında tedrici azalma ile sonuçlanır (Kalkan ve Öcal 2015). Düşük enerji alan hayvanda ovulasyon başlamayabilir, folikül gelişimi ve atrezi meydana gelir. Yem alımının uzun süre kısıtlanması LH'nın yetersiz dolaşımına yol açarak sığırlarda anöstrusu tetikler (Hiçcan ve Yıldız 2016). Eğer bir inek başlangıçtaki vücut ağırlığının % 22-24'ünü kaybedecek olursa anöstrusa girer (Kalkan ve Öcal 2015). Bu nedenle donör inekler, yeterli ve dengeli rasyonlarla beslenmelidir. Çünkü donör ineklerin beslenmesindeki başarı elde edilen oosit ve transfer edilebilen embriyo sayısı ile ilişkilidir.

Laktasyonun erken döneminde, kuru madde tüketimi olması gerekenin % 15-20 altındadır. Bu dönemde en çok üzerinde durulması gereken konu, besin madde yetersizliğini önlemek için mümkün olduğunca kısa sürede yem tüketimini artırmaktır. Hayvanın tükettiği kuru madde miktarı ile enerji ve besin madde ihtiyacını karşılayabilmesi için, hazırlanacak rasyonların içeriğinin yoğunlaştırılması gerekir (Hayırlı ve Çolak 2011).

Yüksek verimli ineklerde, sağımın bu ilk döneminde, özellikle enerji bakımından bir eksik beslenme söz konusudur. Bu dönemde besin maddeleri ve enerji gereksinmesi yeterince karşılanamadığından hayvan bu eksikliği kendi vücut yağlarından telafi etmektedir. Dolayısıyla da canlı ağırlıkta azalma sonucu ciddi vücut kondisyon kaybı meydana gelir. Yüksek verimli ineklerde doğumdan sonraki ilk 2-3 aylık dönemde 60 kg civarında bir canlı ağırlık kaybı olması normal karşılanır. Ancak bu kayıp daha fazla bir düzeyde meydana gelmiş ve devam ediyorsa önemli bir eksik beslenme sorununa işaret eder. Yem tüketimi ve rasyon içeriğinin düzenlenmesiyle vücut kondisyon kaybı en aza indirilmelidir. Aşırı kondisyon kaybı, kızgınlık ve döl tutma problemleri ile yağlı karaciğer sendromu ve ketozis gibi metabolik problemlerin riskini artırmaktadır. Laktasyonun ilk 3 haftasındaki enerji yetersizliği folikül gelişimini ve dolayısıyla ilk kızgınlık ve ilk ovulasyon tarihini laktasyonun 60. gününe kadar geciktirebilir (Tuncer 2008, Tuncer ve ark. 2008, Yavuz 2001).

Pik dönemde uygulanacak başarılı bir besleme programı, hayvanı doğum sonrası 10-12 hafta içinde pozitif enerji dengesine getirir. Süt ve döl verimini optimum düzeye çıkararak, metabolik hastalıklarla ilgili riskleri en aza indirir. Hayvanın enerji açığını

gidermesinin, ovaryum faaliyetlerinin yeniden başlaması için uyarıcı etki yaptığı bildirilmektedir (De Viries ve Veerkamp 2000).

2.4. Rasyon Yağı ve Döl Verimi İlişkisi

Ruminant hayvanlarda üreme, enerjisinin kullanılabilirliği ile yakından ilişkilidir. Yüksek verimli süt inekleri de optimum verimlilik için enerji yoğun rasyonlara ihtiyaç duyarlar. Yağlar, yağ asitlerinin gliserol esterleri olup, önemli enerji kaynaklarıdır. Bu nedenle yağ, süt ineği rasyonlarında alternatif enerji kaynağı olarak kullanılır (Mattos ve ark. 2000, Saijpaul ve ark. 2010).

Günümüzde birçok ülkede, süt endüstrisinde "yağ besleme" uygulaması, yaygın hale gelmiştir (Leroy ve ark. 2013). Yüksek verimli süt ineklerinde enerji açığının yağ ile kapatılmasına yönelik çalışmalarda, rasyonlara ilave edilen yağların döl verimi üzerine olumlu etkileri olduğu da gösterilmiştir (Santos ve ark. 2008, Staples ve ark. 1998).

Yağların üreme performansı üzerindeki olumlu etkilerini açıklamak için birçok olası mekanizmalar ileri sürülmüştür (Boland ve Lonergan 2003). Süt ineklerinin döl veriminde yağların rol aldığı mekanizmalar; progesteron konsantrasyonunda artma (Staples ve ark. 1998), gebeliğin anne tarafından tanınması için luteolitik sinyalleri önlemesi (Mattos ve ark. 2000), embriyo kalitesini iyileştirme (Fouladi-Nashta ve ark. 2009), değişmiş folikül gelişimi (Beam ve Butler 1997) ve rasyonun enerji yoğunluğunu artırması (Saijpaul ve ark. 2010, Santos ve ark. 2008) olarak belirtilebilir.

Son yıllarda ineklerin süt verimi arttıkça, gebelik oranının düştüğü bildirilmektedir. Fakat doğum sonrası ovaryum aktivite ölçümleri, düşük üreme performansının, enerji dengesi ile daha sıkı bir ilişki içerisinde olduğunu göstermektedir (Beam ve Butler 1999).

Yüksek süt verimli ineklerde doğumdan sonra ovaryum aktivitelerinin yeniden başlaması ve tekrar gebelik oluşabilmesi için yeterli ve dengeli beslenme çok önemlidir (Gong ve ark. 2002). Böyle inekler erken laktasyon döneminde enerji ihtiyacını yeterince karşılayamazlar. Çünkü buzağılamadan sonra inekler süt verim pikine genellikle 6-8. haftalarda ulaşırlar. Buna karşılık yem alımında pike erişme 10-12 haftalar arasında olur. Bu ara dönemde hayvanın tükettiği günlük yem, yüksek süt verimi nedeniyle besin madde ihtiyaçlarını özellikle enerji ihtiyacını tam karşılayamaz, vücutta negatif enerji dengesi

gelişir (Ergün ve Erdoğan 2001a). Diğer bir ifadeyle laktasyonun bu erken döneminde süt üretimi besin madde alımına göre daha hızlı artar. Böylece, inek besin madde ihtiyacını karşılamak amacıyla vücudundan enerji rezervlerini harekete geçirir ve negatif enerji dengesi safhasına girer (Boland ve Lonergan 2003).

Hayvanın doğum sonrasında bulunduğu negatif enerji dengesinin şiddeti ve süresi, üreme performansını olumsuz yönde etkilemektedir. Yüksek verimli süt ineklerinde, şiddetli negatif enerji dengesi doğum sonrası ilk östrus görülme zamanı ve/veya ilk ovulasyonda gecikme, kızgınlığın görülmemesi ya da sakin seyretmesi, kistik ovaryum, düşük gebelik oranları, immun sistemin baskılanması, sonun atılamaması, metritis, ketozis gibi sorunlara yol açarak, reproduktif performansı olumsuz etkiler (Mulligan ve ark. 2006).

Negatif enerji dengesine bağlı olarak süt ineklerinde vücut rezervlerinin yoğun kullanımı söz konusudur. Şiddetli negatif enerji dengesindeki ineklerde, besin madde gereksinimi özellikle de enerji ihtiyacının karşılanması amacıyla, vücut yağları mobilize edilmesi sonucu kanda serbest yağ asitlerinin (NEFA), keton maddelerinin ve büyüme hormonunun düzeyi artmakta, glukoz, insülin, insülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF-1) ve leptin düzeyleri düşmektedir (Jorritsma ve ark. 2003, Santos 2001). Metabolik ve beslenme durumlarının göstergesi olan glukoz, insülin, IGF-1 ve leptin düzeylerinin düşmesi sonucu ovaryumların gonadotropinlere duyarlılığı azalır ve ovaryum aktivitesi gecikir. Ayrıca hipotalamusta GnRH iletimi olumsuz etkilenir. Buna bağlı olarak hipofizden (FSH, LH) salınan hormonların düzeyleri de düşer (Beam ve Butler 1997, Butler 2000). Kan metabolitleri ve hormonlardaki bu değişimler ovaryum fonksiyonunu ve fertilitiyi tehlikeye atabilir (Dirandeh ve ark. 2013).

Erken laktasyon döneminde vücut rezervlerinin uzun sürede tükenmesi (Butler 2000) veya enerji alımındaki kısa süreli dalgalanmaların bile (Dunne ve ark. 1997) postpartum ovaryum aktivitesinin yeniden başlaması ve/veya gebelik oranı üzerinde önemli olumsuz etkileri olabilir (Childs ve ark. 2008).

Rasyona yağ ilaveleri, ilk ovulasyon aralığı gibi reproduktif yanıtları düzenleyen insülin gibi metabolik hormonları etkileyebilir (Bilby ve ark. 2006b). Süt ineklerinde, insülin düzeyinin normal olması, ovaryumun gonadotropinlere cevabını artırmakta, foliküllerin gelişimi için pozitif etki oluşturmaktadır. IGF-1 ise hücre mitogenezi, hormon üretimi, embriyo gelişimi için önemlidir (Butler ve ark. 2003). Diğer yandan, kanda azalan IGF-I seviyesi, blastosit safhasına kadar olan embriyo gelişiminin erken döneminde uterus

ve ovidukt ortamını negatif yönde etkiler (Alaçam ve ark. 2010, Chagas ark. 2007, Şenünvar ve Nak 2015). Şiddetli negatif enerji dengesi nedeniyle, kandaki düzeyi artan ve yağlı karaciğer sendromu (fat-cow) ve ketozis gibi metabolik hastalıkların göstergesi olan serbest yağ asitleri (NEFA) ve keton maddeleri (asetik asit, aseto asetik asit, betahidroksi bütirik asit) ise fertilitiyi olumsuz etkiler. Laktasyon ve enerji dengesi ile ilişkili endokrin değişiklikler (Butler 2003) ve folikül sıvısındaki metabolitlerin lokal etkileri (Leroy ve ark. 2005), oosit ve embriyo kalitesini ve gelişimsel yetkinlik kazanmasını engelleyebilir (Takahashi ve ark. 2013). Süt ineklerinde, doğum sonrası foliküler dalganın başlaması ve dominant folikülün olgunlaşması da sözü edilen metabolik ve hormonal koşullardan etkilenmekte ve üretilen östrojen miktarı da azalmaktadır. Doğum sonrası LH'nın salınım frekansının yükselmesi, ovule olabilecek dominant foliküllerin gelişimi ve östrojen üretimi açısından önemlidir. Negatif enerji dengesi özellikle LH salınım frekansını ve dominant folikülün ovulasyonuna neden olacak pik salınımını olumsuz etkilemektedir (Butler 2000). Nitekim doğum sonrası, ovulasyon gösteren ineklerde, ovulasyon göstermeyen ineklere göre plazma IGF-1 düzeyi % 40-50 oranında daha yüksek bulunmuştur (Beam ve Butler 1997).

Süt sığırlarını negatif enerji dengesinin olumsuz etkilerine karşı korumak için, doğumdan sonraki rasyonun enerji yoğunluğunun artırılması gerekmektedir. Enerji yoğunluğunun artırılması amacıyla, rasyonda kaba yemin azaltılarak, konsantre yem oranı, konsantre yem karmasını oluşturan yem maddeleri içerisinde de tahıl oranı artırılabilir. Fakat rasyonun tahıl ağırlıklı hazırlanması sonucu rumen fermantasyonuna bağlı olarak aşırı asit üretimi nedeniyle bir başka ve önemli metabolizma hastalığı olan rumen asidozisi gelişebilir (Türkmen 2010). Bu sebeple rumende fermente olmamaları (Türkmen 2010), yüksek enerji sağlamaları ve rumende metan üretimini azaltarak yemin enerjisinin kullanım etkinliğini artırmalarından dolayı rasyona yağ ilave etmek daha doğru olacaktır (Yavuz 2001). Nitekim Spicer ve ark. (1993) üreme döngüsünün kritik aşamaları esnasında enerji alımını artırmak için, rasyona yağ ilavesinin en etkin çözüm yolu olacağını açıklamıştır. Boland ve Lonergan (2003) erken laktasyondaki süt ineklerinin beslenmesinde yağ kullanımının, enerji girişi ve çıkışı arasındaki farkı en aza indireceğini belirtmişlerdir.

Rasyonlara yağ ilavesinin reproduktif performansı nasıl etkileyebileceği ile ilgili birçok yaklaşım vardır. Rasyonlara ilave edilen yağların türüne bağlı olarak, üreme

fizyolojisi üzerine uterus, korpus luteum, folikül, oosit veya embriyo düzeyinde doğrudan etkileri olabileceği gibi enerji dengesi ya da bağışıklık fonksiyonunu değiştirmek suretiyle dolaylı olarak da etkisini gösterebilir (Leroy ve ark. 2013). Benzer şekilde Mattos ve ark. (2000) tarafından da yağların, üreme fonksiyonlarını hem enerji sağlayarak hem de enerji ile ilgisi olmadan destekledikleri bildirilmiştir. Rasyonlarına yağ ilavesi yapılan süt sığırlarında, preovulatör folikül sayısı ve boyutu ile dominant folikülün büyüme oranının ve östradiol üretiminin arttığı rapor edilmiştir (Beam ve Butler 1997, Mattos ve ark. 2000). Östradiol üretimindeki artma büyük olasılıkla folikül içi sıvı ve plazmadaki kolesterol seviyesindeki artmadan kaynaklanmaktadır (Beam ve Butler 1997). Beam ve Butler (1997) süt sığırlarında erken postpartum döneminde rasyonlara yağ ilavesinin folikül gelişimini artırarak ovaryum aktivitesinin yeniden başlamasını ve ovulasyonun şekillenmesini hızlandırdığını, Thomas ve ark. (1997) ise ilk kızgınlık siklusunun görülme zamanının kıaldığını bildirmiştir. Nitekim rasyonlarına % 2 kuyruk yağı ilave edilen ineklerde, kontrol grubuna göre ilk ovulasyonun şekillenme süresinin kıaldığı rapor edilmiştir (Beam ve Butler 1997). Ayrıca rasyonlara yağ ilavesinin büyümekte ve olgunlaşmakta olan oosit ile embriyonun mikroçevresini değiştirerek, döl verimini etkileyebileceği bildirilmiştir (Leroy ve ark. 2013). Staples ve ark. (1998) göre yağlar bu etkilerini negatif enerji dengesi şiddetini azaltması ve plazma insülin seviyesini artırarak folikül gelişimini uyarması ile gösterir.

Son yıllarda, yağ ilavesinin döl verimi üzerine olan olumlu etkilerinin ineklerin enerji durumlarındaki iyileşmeden değil, spesifik yağ asitlerinin yüksek miktarlarda kullanılmasından kaynaklandığı kabul edilmektedir (Leroy ve ark. 2013, Mattos ve ark. 2000). Bilby ve ark. (2006a) tarafından özellikle farklı yağ asiti kaynaklarının değişen konsantrasyonlarda rasyonlara çeşitli yağ kaynağı olarak ilave edilmesinin genel olarak gebelik oranlarını iyileştirdiği bildirilmiştir. Leroy ve ark. (2013), omega-3 (α -linolenik asit) yağ asitleri ve konjuge linoleik asitler gibi çoklu doymamış serbest yağ asitleri ile beslemenin memede yağ asiti sentezini azaltacağından dolayı enerji dengesini de iyileştireceğini bildirmişlerdir. Ayrıca omega-3 ve omega-6 (linoleik asit) doymamış yağ asitlerinin sırasıyla folikülerin büyümesini, steroid sentezini, ovaryum ve endometriyumda prostaglandin metabolizmasını değiştirebileceği rapor edilmiştir (Leroy ve ark. 2013). Doymuş yağ asitlerinin olumlu etkilerinin aksine doğum sonrası ilk hafta palm yağı gibi yüksek doymuş yağ asitleri ile beslemenin süt verimini artırabileceğini ancak negatif enerji

dengesinin şiddetlenmesine ve dolayısıyla fertilitenin bozulmasına yol açabileceği belirtilmiştir (Leroy ve ark. 2013). Bununla birlikte aynı araştırmacı yüksek yağ içeren rasyonlarla beslemenin embriyo gelişimi ve metabolizması için zararlı olabileceğini de bildirmiştir.

Yağlar, rasyonun enerji düzeyini yükseltip lezzetliliğini artırsa da kuru madde tüketimini olumsuz etkilediği için ruminant rasyonlarında kullanımları sınırlıdır (Hayırlı ve Çolak 2011). Genellikle süt ineği rasyonlarında yağ içeriği kuru madde alımının % 3'ü ile sınırlandırılır. Bununla birlikte kuru madde ve sindirilebilir lif azaltılır (Saijpaul ve ark. 2010). Süt sığırı rasyonlarında ham maddelerden gelen ve ilave edilen yağlar dahil olmak üzere kuru madde esasına göre toplam rasyon ham yağ oranı en çok % 5 olmalıdır. Çünkü bir miktar yağ kullanımı ineğin enerji ihtiyacının karşılanmasına önemli bir katkı yaparken, aşırısı rumen fermantasyonuna zarar vermektedir. Yüksek oranda yağ kullanımı ilk önce selüloz sindirimini olumsuz etkileyerek süt yağında düşmeye neden olur. Ancak son zamanlarda rumende fermente olmayan korunmuş yağ ya da diğer bir adlandırmayla bypass yağ olarak da bilinen yağ kaynaklarının geliştirilmesiyle rasyonda olması gereken en çok yağ miktarları % 8'lere kadar çıkmıştır (Türkmen 2011).

Yüksek verimli süt ineklerinde, postpartum dönemde sıkça karşılaşılan negatif enerji dengesinin şiddetini azaltması (Staples ve ark. 1998) amacıyla, rasyonlara yağ ilavesi bir seçenek olarak değerlendirilmektedir (Şenünvar ve Nak 2015). Fakat rasyonlara ilave edilen yağ düzeyine dikkat etmek gerekir. Çünkü laktasyonun ilk haftalarında yağ içeriği yüksek olan rasyonların kullanılması kuru madde tüketimini olumsuz etkileyerek plazma NEFA düzeyini artırabilmekte ve fertilitede düşmeye neden olabilmektedir (Şenünvar ve Nak 2015).

Yukarıda bahsedilen olumsuzluklardan dolayı son zamanlarda yağ ile ilgili çalışmalar uzun zincirli doymamış yağ asitleri üzerine yoğunlaşmıştır. Bu konu üzerinde en çok durulan uzun zincirli doymamış yağ asitleri olan; omega-3, omega-6 ile konjuge linoleik asit (CLA) olmuştur (Elis ve ark. 2016, Görgülü ve ark. 2011, Şirin ve Kuran 2004).

2.4.1. Rasyona Yağ Asiti İlavesinin Döl Verimine Etkisi

Yüksek verimli süt ineği rasyonlarına ilave edilen yağlar, bu hayvanların enerji ihtiyaçlarını karşıladıkları gibi yapılarında buldukları yağ asitlerinden dolayı da üreme fonksiyonlarını doğrudan etkilemektedirler (Şirin ve Kuran 2004). İneklerde rasyona çoklu doymamış yağ asiti (PUFA) ilavesinin döl verimini etkileyebileceği birçok çalışmada gösterilmiştir (Bilby ve ark. 2006, Mattos ve ark. 2000, Robinson ve ark. 2002, Santos ve ark. 2008).

Yağ asitleri, doğal yağların yapısında esterleşmiş halde bulunurlar. Bunların esterleşmemiş formlarına serbest yağ asitleri denilmektedir. Bir yağ asiti molekülü, bir ucunda metil grubu (CH₃), bir ucunda da suda çözülebilen karboksil grubu (-COOH) bulunan uzun zincirli organik asittir. Yapısal formüllerini oluşturan karbon zincirleri arasındaki bağ durumuna bağlı olarak doymuş veya doymamış yağ asitleri olarak 2 kısma ayrılırlar. Doymuş yağ asitlerinin C-atomları arasında tek bağ bulunur ve genelde 4-18 C-atomu kapsarlar. Doymamış yağ asitlerinin C-atomları arasında çift bağ bulunur ve 16-20 C-atomu kapsarlar. Yapısında tek çift bağ bulunduranlar tekli doymamış (mono unsature yağ asiti=MUFA), iki veya daha fazla çift bağ bulunduranlar ise çoklu doymamış (poliunsature yağ asitleri=PUFA) yağ asiti olarak adlandırılmaktadır (Küçükersan 2008, Şirin ve Kuran 2004).

Hayvansal organizmada sentezlenemeyen ve rasyonla birlikte alınması gerekli olan yağ asitlerine, *esansiyel yağ asitleri* denir ve mutlaka rasyonla alınmaları gerekir. Doymuş yağ asitleri ise *esansiyel olmayan yağ asitleridir*. Palmitik (C16:0) ve stearik (C18:0) asit esansiyel olmayan doymuş yağ asitleridir. Oleik (C18:1), linoleik (C18:2) ve linolenik (C18:3) asit ise doymamış yağ asitleri olup esansiyel yağ asitleridir (Küçükersan 2008, Şirin ve Kuran 2004, Thatcher ve ark. 2004).

Yağ asitleri çift bağın konumuna göre omega-3, omega-6 ve omega-9 yağ asitleri olarak da isimlendirilebilmektedir. Özellikle insanların beslenmesinde de önemli olan omega-3 yağ asitleri; α- linolenik asit (C18:3), eikosapentaenoik asit (EPA, C20:5) ve dokosaheksaenoik asit (DHA, C22:6), omega-6 yağ asitleri ise linoleik asit (C18:2), γ- linoleik asit ve arahidonik asit (C20:4) ihtiva etmektedir (Küçükersan 2008, Şirin ve Kuran 2004, Thatcher ve ark. 2004). Linoleik asit bitkisel yağlarda en fazla bulunan poliansature yağ asitidir. Bu yağ asitinde karbon zincirinin uzaması (elongasyon) ve çift bağ sayısının artması (desaturasyon) ile arahidonik asit meydana gelir. Linolenik asit bitkilerin daha çok

yeşil yapraklarında yer alır. Linolenik asitin elongasyon ve desaturasyonu ile hayvanlarda eikosapentaenoik asit (EPA, C20:5) ve dokosaheksaenoik asit (DHA, C22:6) şekillenmektedir (Küçükersan 2008).

Doymamış yağ asitlerinden;

- Palmitoleik asit ile oleik asit; bitkisel ve hayvansal yağlarda,
- Omega-6 (linoleik asit); ayçiçeği, soya, mısır, aspir, susam, yer fıstığı ve pamuk tohumunda,
- Omega-3 (linolenik asit, EPA ve DHA); çavdar, soldurulmuş çayır otu, keten tohumu yağı ve balık yağında,
- Arahidonik asit; yer fıstığı yağı ve hayvansal fosfolipidlerde yer alırlar (Küçükersan 2008, Şirin ve Kuran 2004, Thatcher ve ark. 2004).

Hayvan beslemede yağ kullanımı ilk önceleri kanatlı rasyonlarında yaygınlaşmış iken süt sığırcılığında yaşanan gelişmelerle birlikte özellikle yüksek verimli süt ineklerinde de kullanım alanı bulmuştur. Bu amaç için bitkisel ve hayvansal kökenli yağlar herhangi bir işlem görmeden doğrudan rasyona ilave edilmiştir. Son yıllarda ise bu durum yerini bypass (rumen korumalı) yağlara bırakmıştır. Çünkü bypass yağlar oda ısısında katı olduklarından nakliye, depolama ve rasyona karıştırılma işlemlerinde diğer yağlara göre daha avantajlı durumdadırlar. By-pass yağların hayvansal ve bitkisel yağlara göre tercih edilmelerindeki en büyük gerekçelerden bir tanesi ise rumende aktivite göstermiyor olmalarıdır (Türkmen 2016). Çünkü ruminantlar tarafından tüketilen yemlik yağlar rumende hidrojenasyona uğrar. Hidrojenasyon; doymamış yağ asitlerindeki çift C-bağına hidrojen katılmakla aynı karbon atomuna sahip doymuş yağ asitlerinin elde edilmesidir. Bu yüzden ruminant rasyonlarında doymamış yağ asitleri fazla miktarda bulunduğu halde vücut yağlarının doymuş yağ asitlerince zengin olmasının en önemli nedeni de hidrojenasyondur (Küçükersan 2008). Üretim teknolojisi göz önüne alındığında, hayvan beslemede kullanılan by-pass yağlar üçe ayrılmaktadır. Bunlar yağ asitlerinin kalsiyum tuzları (Ca), hidrojenize olmuş korunmuş yağlar ve fraksiyone yağlardır (Ayaşan ve Karakozak 2011).

Birçok çalışmada laktasyondaki süt sığırlarını yağ ilavesi yaparak beslemenin reproduktif performansı iyileştirdiği rapor edilmiştir (Staples ve ark. 1998). Son yıllarda bu olumlu etkilerin, enerji durumundaki iyileşmeden ziyade yağların bileşiminde bulunan yüksek miktarlardaki spesifik yağ asitlerinden kaynaklandığı kabul edilir hale gelmiştir

(Leroy ve ark. 2013, Mattos ve ark. 2000). Örneğin, yağ asitlerinin üreme için gerekli proteinleri şifreleyen genlerin transkripsiyonu üzerine doğrudan etkileri olabilmektedir (Mattos ve ark. 2000).

Yağ asitleri genel olarak, hücre membranlarının yapı ve fonksiyonun sürdürülmesinde, kolesterol metabolizmasında, steroidogenezis ve prostaglandin sentezinde önemli role sahiptirler (Abayasekara ve Wathes 1999, Fouladi-Nashta ve ark. 2009). Yağ asitleri üreme sürecine ise 2 ana görevi sayesinde katılmaktadır. Bunlar; 1) progesteron hormonunun prekürsörü olan kolesterolün ve 2) prostaglandin hormonlarının (PGF2 α ve PGE2) prekürsörü olan arahidonik asitin ön maddelerinin yağ asitleri olmasından kaynaklanmaktadır (Mattos ve ark. 2000, Tessaro ve ark. 2015, Urlep ve Rozman 2013, Zachut ve ark. 2010). Ayrıca yağ asitleri, hücre zarının bileşimini dolayısıyla membran akışkanlığını değiştirerek üreme ile ilgili dokuların işlevlerini etkileyebilir. Membran akışkanlığı hücrede besinler ve diğer biyolojik faktörlerin geçişini etkileyebilmekte ve bu şekilde dokuların fizyolojik fonksiyonları etkilenmektedir (Zachut ve ark. 2010).

Prostaglandinler; ovulasyonda, doğumda ve doğumdan hemen sonra östrus döngüsünün tekrar başlamasında, östrus belirtilerinin artırılmasında ve ovaryumdaki kan akışını artırarak folikül gelişiminde önemli rol oynarlar. Prostaglandinler, gebe olmayan hayvanlarda uterusun, gebe ineklerde ise hem uterusun hem de plasentadan salgılanmaktadır. Arahidonik asit, prostaglandinlerin ön maddesidir. Ayrıca, linoleik asit de, arahidonik asite dönüşerek prostaglandinlerin sentezinde önemli etkiye sahiptirler. Rasyondaki linoleik ve arahidonik asit seviyelerindeki artış prostaglandinlerin sentezini stimüle etmektedir. Bu nedenle rasyona ilave edilen yağlar, prostaglandinlerin sentezini etkileyebilmektedir (Thatcher ve Staples 2000). Doğum sonrası süreçte yoğun endojen PGF2 α salınımının uterus involusyonunun gerçekleşmesinde en önemli etken olduğu bilinmektedir (Kalkan ve Öcal 2015). PGF2 α involusyonu sağlayarak, uterus içeriğinin boşaltılmasını ve uterusun rejenerasyonunu (yenilenmesini) kolaylaştırır. PGF2 α bu etkisinden dolayı, uterus içi enfeksiyonları (endometritis) önleyerek, reproduktif performansa katkı sağlamış olur.

Kolesterol, progesteronun temel ön maddesidir (Şekil 2.4.1.1.). Linolenik asit de kolesterolün ön maddesi olmasından dolayı progesteron sentezinde rol oynamaktadır (Thatcher ve ark. 2004). Progesteron hormonu korpus luteumdaki luteal hücreler tarafından

etki yapılarında bulunan yağ asitlerinden kaynaklanmaktadır (Bilby ve ark. 2006a, Leroy ve ark. 2013, Mattos ve ark. 2000). Nitekim linolenik asitçe (C18:3n-3) zengin yemlenen ineklerde folikül gelişiminin pozitif olarak etkilendiği saptanmıştır (Ponter ve ark. 2006). Ayrıca yağ ilavesinden kaynaklanan foliküllerin sayısındaki artış, dominant folikülün boyutunu da genel olarak artırmıştır. Çünkü boyutları artan preovulatör foliküller, kısmende olsa plazma LH konsantrasyonlarında artmaya neden olabilir ve artan LH düzeyleride folikülün bir sonraki büyümesini uyarır (Mattos ve ark. 2000). Robinson ve ark. (2002) tarafından da omega-6 veya omega-3 yağ asitlerince zengin rasyonlar ile beslenen ineklerde dominant foliküllerin çapının arttığı bildirilmiştir. Bununla birlikte rasyonlarına yağ ilave edilmiş ineklerin ovaryumlarında kistik yapıların oluşabileceği unutulmamalıdır. Salfer ve ark (1995) tarafından yağ ilave edilmiş rasyonlarla beslenen hayvanlarda daha fazla kistik foliküllerin görüldüğü bildirilmiştir.

Dominant foliküllerin ovulasyonundan kısa bir süre önce linoleik asitçe zengin rasyonlarla beslenen hayvanlarda ovulasyon oranları artmıştır (Abayasekara ve Wathes 1999). Daha büyük korpus luteum meydana getirerek, progesteron sentezini stimüle etmek ve böylelikle gebelik oranlarını iyileştirebilmek için ovulasyon sonrası dönemde hayvanlara linolenik asitçe zengin rasyonlar verilmelidir (Petit ve ark. 2002).

Birçok çalışmada özel yağ asitlerinin folikül gelişimi, preovulatör folikül özellikleri veya oosit kalitesi üzerine etkileri araştırılmıştır ve tutarsız sonuçlar elde edilmiştir (Zachut ve ark. 2010). Robinson ve ark. (2002) bazı çalışmalarda omega-3 veya omega-6 yönünden zengin besin maddeleri ile besleme sonucunda orta boy folikül sayılarının arttığını belirtmiştir. Linolenik asit (omega-3) yönünden zengin keten tohumu ilaveli rasyonla beslenen ineklerde linoleik asit (omega-6) yönünden zengin soya fasulyesi ile beslenen ineklere göre küçük folikül sayısı daha düşük gözlenmiştir (Ponter ve ark. 2006). Özellikle yağ asiti ilavelerinin dominant foliküllerin üzerine olan etkileri de incelenmiştir. Omega-6 (Robinson ve ark. 2002) veya omega-3 (Ambrose ve ark. 2006) yönünden zengin beslenen ineklerde dominant folikül çapı artmıştır. Bu bulgular özel yağ asitlerinin oosit ve embriyo gelişimi ve kalitesi üzerine belirgin etkileri olduğunu göstermektedir (Zachut ve ark. 2010). Ancak Bilby ve ark. (2006a) saptamasına göre; ineklerde, linoleik ve linolenik asit kaynağı olarak, ayçiçeği ve keten tohumu yağları ilaveli rasyonla beslemenin oositlerin in vitro olgunlaşması ve daha sonraki oosit kalitesi, fertilizasyon, ya da embriyo gelişimi üzerinde çok az etkisi vardır. Zeron ve ark. (2002) ise koyunların balık yağı takviyeli

rasyon ile beslenmesi sonucu, oosit membran bütünlüğünün ve oosit kalitesinin iyileştiğini, bununla birlikte plazmada, foliküler sıvıda ve kümülüs hücrelerinde PUFA oranının arttığını, ancak oosit içinde artmadığını belirtmişlerdir. Süt ineklerinde döl verimi artışının, oositin fosfolipileri içinde yüksek oranda bulunan PUFA ile bağlantılı olduğu belirtilmiştir (Zeron ve ark. 2001). Bilby ve ark (2006b) tarafından, ineklerde linolenik asit yönünden zengin olan balık yağı ile besleme çalışmasında omega-3 yağ asiti oranının endometriumda dahil olmak üzere çeşitli dokularda arttığı gösterilmiştir. Heravi Moussavi ve ark. (2007) çalışmalarında erken laktasyon süt ineklerinin balık unu veya omega 3 ilaveli rasyon ile besleme sonrasında uterusu omega-3 konsantrasyonlarının arttığını rapor etmişlerdir. Zachut ve ark. (2010) ise yapmış oldukları çalışmada yüksek omega-3: omega-6 oranı içeren rasyon ile beslemenin folikül içinde linolenik asit ve östradiol seviyelerini artırdığı ve embriyo bölünme oranını geliştirdiğini bildirmişlerdir. Bütün bu çalışmalar, beslenme ve oosit/embriyo kalitesi arasındaki ilişkinin karmaşıklığını göstermektedir (Leroy ve ark. 2013).

Süt ineklerinde embriyonik kayıplar, çoğunlukla tohumlamadan sonraki 15 ile 17. günler arasında gerçekleşmektedir. Bunun en büyük nedeni uterusun salgılanan ve gebeliğin oluşumuna engel olan PGF2 α hormonunun olabileceği belirtilmektedir (Petit ve ark. 2008). Çünkü PGF2 α luteolitik etkisinden dolayı gebeliğin devamı için gerekli olan korpus luteumu lize edebilmektedir. Linoleik asit ve eikosapentaenoik asitin (balık ununda bulunur) süt ineklerinin endometriyal dokusunda siklooksijenaz inhibitörleri oldukları kanıtlanmıştır. Bu dönemde rasyona ilave edilen yağ asiti kaynaklarının etkisiyle östrodiol 17 β salgısı baskılanarak (Staples ve ark. 1998), PGF2 α sekresyonun engellenmesi sonucu, embriyonik kayıpların azaltılarak gebelik oranlarının iyileştirebileceği belirtilmektedir (Mattos ve ark. 2000, Petit ve ark. 2008). Başka bir ifadeyle, bu yağ asitleri gebeliğin gelişimi sırasında uterus endometriumundan PGF2 α sentezini bloke ederek luteolitik aktiviteyi baskılar ve korpus luteumun ömrünün uzamasını dolayısıyla da gebeliğin devamlılığını sağlar (Mattos ve ark. 2002, Petit ve ark. 2002, Staples ve ark. 1998, Thatcher ve ark. 2004). Petit ve ark. (2002) ineklerde PUFA yönünden zengin keten tohumu ile beslemenin, PGF2 α sekresyonunu azalttığını bildirmiştir. Benzer bulgular, ineklerin başka bir omega-3 kaynağı olan balık yağı ile beslenmesi sonrasında da rapor edilmiştir (Mattos ve ark. 2002). Ambrose ve ark. (2006) ineklerde PGF2 α düzeylerinin azaltılmasının döl verimini iyileştirebileceğini belirtmiştir.

Linoleik ve arahidonik asitçe zengin rasyonlar prostaglandinlerin sentezini artırırken, linolenik asitçe zengin rasyonlarda progesteron sentezini artırmaktadır. Bu çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA), progesteron ve prostaglandinlerin sentezini etkileyerek; ovaryum siklitesinin yeniden başlaması, ovaryumda foliküler gelişim, ovulasyon, fertilizasyon, korpus luteum fonksiyonu, embriyonun implantasyonu, gebeliğin oluşması, gebeliğin anne tarafından tanınması ve devamı ile doğumu da kapsayan üreme süreçleri üzerine önemli etkiye sahiptirler (Abayasekara ve Wathes 1999, Beam ve Butler 1997, Lammoglia ve ark. 1997). Ayrıca bu olumlu etkilerle birlikte, membran unsuru olarak oosit ve embriyo kalitesini ve embriyonun sağkalım oranını artırdığı belirtilmiştir (Thangavelu ve ark. 2007). Dolayısıyla rasyonda kullanılacak yağ kaynaklarının yağ asiti profili iyi bilinmelidir (Grummer ve Carroll 1991).

Farklı yağ asiti kaynaklarının değişen konsantrasyonlarda rasyonlara çeşitli yağ kaynağı olarak ilave edilmesi genel olarak gebelik oranlarını iyileştirir (Bilby ve ark. 2006a). Kassa ve ark. (2002) ineklerde postpartum dönemdeki linolenik asit kullanımının gebelik oranını artırdığını bildirmiştir. Linolenik asit içeriği bakımından zengin keten tohumu yedirilen (KM bazında % 8) ineklerde embriyonik ölümlerin (Ambrose ve ark. 2006) ve ovaryum kisti insidansının (Colazo ve ark. 2009) daha az olduğu, bunun da artan blastomer sayısı (Thangavelu ve ark. 2007), folikül büyümesi/siklitesinin yeniden başlaması (Ambrose ve ark. 2006) ve doğumdan sonra ilk ovulasyon için geçen sürenin kısa olması (Colazo ve ark. 2009) ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Ancak keten tohumu ile beslenen süt ineklerinin döl verimlerinin artması ile ilgili rapor edilen bilgiler şüphelidir (Bork ve ark. 2014). Petit ve ark. (2002) α -linolenik asit kaynağı (ALA) olarak keten tohumu ile beslenmenin embriyo kalitesini artırmadığını veya embriyo transferi sonrası gebeliğin oluşması ve devamının sağlanmasında etkili olmadığını rapor etmişlerdir. Keten tohumu veya keten tohumu yağı ile besleme, birkaç reproduktif parametreyi etkilemiştir. Bunlar; embriyo kalitesinde iyileşme (Thangavelu ve ark. 2007), gebelik kayıplarında azalma (Ambrose ve ark. 2006), plazma PGF2 α düzeyinde düşme (Petit ve ark. 2002) ve serum progesteron konsantrasyonunda artma (Lessard ve ark. 2003) olarak belirtilmiştir. Dirandeh ve ark (2013) çalışmalarında soya fasulyesi ve keten tohumu ile beslenen hayvanlarda plazma progesteron düzeyleri arasında fark bulunmadığını ancak kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Doymamış yağ asitleri rumen mikroorganizmaları tarafından biyohidrojenizasyona (doymamış karbon bağlarının hidrojenle doyurulması) uğrayarak stearik aside yani doymuş hale dönüştürülür (Staples ve ark. 1998). Rumende biyohidrojenizasyona uğramalarından dolayı bu yağ asitlerinin rumenden korunmuş formlarının (Ca-tuzları) kullanılması, döl verimi yönünden daha etkili olacaktır (Santos ve ark. 2008, Staples ve ark. 1998). Nitekim son zamanlarda yüksek verimli süt ineklerinde rumen korumalı yağların oosit gelişimi üzerinde yararlı etkileri olduğu bildirilmiştir (Fouladi-Nashta ve ark. 2009). Fouladi-Nashta ve ark. (2007) tarafından rumen korumalı yağ olan ve Ca tuzlarına bağlı olarak verilen palm asit yağının (ağırlıklı olarak palmitik asit (C16:0) ve oleik asit (C18:1) içeren) in vitro blastosit üretimini önemli derecede artırdığı bildirilmiştir.

Süt sığırı rasyonlarındaki linoleik asit/linolenik asit oranı da, üreme fonksiyonları üzerine önemli etkiye sahip olup, bu oranın düşük olması prostaglandin sentezini ve prostaglandin aktivitesini azaltmaktadır (Chassagne ve Bornouin 1992). Chassagne ve Bornouin (1992) ot silajı ile beslenen ineklerde plasentanın atılmasının geciktiğini bildirmişlerdir. Çünkü ot silajında mısır silajına göre daha yüksek düzeyde linolenik asit, daha az düzeyde linoleik asit bulunmaktadır. Linoleik asit oranının düşük olmasından dolayı da prostaglandin sentezi azalmaktadır. Prostaglandin sentezi ve aktivitesinin azalması, prostaglandin yetersizlik belirtilerinin ortaya çıkmasına; yani folikül gelişimi ve ovulasyon da olumsuzluklar görülmesine, iki doğum aralığının uzamasına, doğum sonrası uterus involusyonunda gecikmeye ve plasentanın atılamaması gibi sorunlara neden olmaktadır. Ayrıca düşük verimli inekler genellikle kaba yem ağırlıklı beslendikleri için linoleik asit/linolenik asit arasındaki oran dengede olup omega-6:omega-3 oranı 1:1'e yakındır. Yüksek verimli inekler omega-6'ca zengin tahıl ve yağlı tohum içeren kesif yem ağırlıklı beslendikleri için bu oran yükselir, yani omega-3'ce fakir beslenmiş olurlar. Kısaca omega-6 yönünden zengin omega-3 yönünden fakir bir rasyonla beslenme prostoglandinlerin sentezini destekler. Yukarıda da bahsedildiği üzere gebelik, ovaryumlardaki korpus luteumdan salgılanan progesteron hormonu ile hazırlanır. Prostaglandin hormonu salgısı ise progesteron hormonu salgısını inhibe ederek, uterus içi koşullar embriyonun tutunması için uygunsuz hale gelir ve gebelik başlamadan biter. Bu koşullarda linoleik asit/linolenik asit arasındaki oranı dengede tutmak gebeliğin başlaması ve devamı için çok önemlidir.

Wiltbank ve ark. (2014) tohumlama öncesi ve/veya tohumlama sonrasındaki plazma progesteron seviyelerinin gebelik oranlarına ve sonrasında da embriyonik ölümlere karşı olumlu etkileri olduğunu rapor etmişlerdir. Yapılan birçok çalışmada tohumlama öncesi yüksek progesteronun sütçü ineklerin fertilitesi üzerine önemli rol oynadığı belirlenmiştir (Folman ve ark. 1973). Bununla birlikte Holştayn ve Jersey ırkı sütçü ineklerde postpartum dönemde ki ilk tohumlama öncesi 12 gün boyunca toplanan kan örneklerinde plazma progesteron düzeyi ile gebelik oranlarının orantılı olarak arttığı tespit edilmiştir (Fonseca ve ark. 1983). Benzer şekilde Diskin ve ark. (2006) göre luteolizis amacıyla yapılacak PGF2 α enjeksiyonu anındaki progesteron konsantrasyonu sonraki fertilitte üzerine pozitif bir korelesyona sahiptir. Ayrıca süperovulasyon uygulaması boyunca yüksek progesteron konsantrasyonunun süperovulasyon sonrası 7. günde toplanan embriyo kalitesini artırdığı yapılan bir çalışmada rapor edilmiştir (Rivera ve ark. 2011). Çünkü progesteronun oosit olgunlaşması ve erken embriyo gelişimi üzerine önemli rolü vardır. Progesteron ve embriyonik interferon-tau konsantrasyonları arasında pozitif ilişki olduğu bildirilmiştir. Bu yüzden, embriyo gelişiminin başlangıcı sırasında maternal progesteron konsantrasyonlarında ki küçük değişiklikler, antiluteolitik ajanın salınmasını değiştirebilir ve embriyo canlılığı için kritik olabilir (Hiçcan ve Yıldız 2016).

Diğer taraftan süt yağ düzeyi, doymamış yağ asiti içeriği yüksek rasyonlar kullanıldığında düşmektedir. Süt yağının düşüşüne bağlı olarak, vücuttan atılan enerji miktarı azalarak enerji dengesine katkıda bulunulmuş olur (Pires ve Grummer 2008). Nitekim doymamış yağ asitlerinin negatif enerji dengesine etki ederek döl verimini iyileştirdiklerini gösteren çalışmalarda mevcuttur. Mashek ve ark. (2005) hayvansal yağ, keten yağı ve balık yağı kullandıkları çalışma sonucunda ineklerin plazma NEFA ve beta hidroksi butirik asit ve karaciğer trigliserid düzeylerinin keten yağı (linolenik asit: C18:3n-3) ile beslenenlerde daha düşük olduğunu saptamışlardır. Heravi Moussavi ve ark. (2007) erken laktasyondaki süt ineklerinde rasyona balık unu veya omega-3 yağ asiti takviyesi sonucu uterusu önemli derecede omega-3 yağ asiti konsantrasyonunun arttığını belirtmiştir. Pires ve Grummer (2008) linolenik asit (C18:3n-3) içeriği yüksek keten tohumu yağının vücut dokularının insuline duyarlılığını ve insulinin anti lipolitik etkisini özellikle negatif enerji dengesi olan koşullarda artırdığını saptamıştır.

Çizelge 2.4.1.1. Rasyonlara Yağ İlave Edilmesinin Döl Verimi Üzerine Etkisi (*)
*Rodney ve ark. (2015)'dan adapte edilmiştir (Türkmen 2016).

Deneme Zamanı	Yağ Kaynağı	Tohumlama Başına Gebelik Oranı, %		Açık Gün Sayısı	
		Kontrol Grubu	Deneme Grubu	Kontrol Grubu	Deneme Grubu
Prepartum- 28 ve tohumlama sonrası 32. günler	Ayçiçeği ve keten tohumu	32	48	-	-
Postpartum 0- 14. hafta	Soya yağı	22	0	-	-
Prepartum- 15 ile 63. günler	PYA-CaT	43	75	-	-
Postpartum 1-150. günler	HidYA	33	57	105	99
Postpartum 1- 120. günler	YA-CaT	27	45	80	83
Postpartum 1-112. günler	Çiğit	33	42	107	96
Postpartum 1-112. günler	Çiğit ve YA-CaT	33	42	107	123
Postpartum 1- 170. günler	YA-CaT	28	43	88	74
Postpartum 3- 16. hafta	Don yağı	82	75	-	-
Prepartum – 14 ve postpartum151. günler	Hid. Don yağı	-	-	88	102
Postpartum 0- 98. günler	YA-CaT	36	36	-	-

Son yıllarda süt sığırı rasyonlarına yağ veya yağ asiti ilavesinin döl verimi üzerine etkilerini inceleyen geniş kapsamlı bir meta analiz çalışması yapılmıştır (Rodney ve ark. 2015). Çizelge 2.4.1.1.'de sunulan çalışmanın sonuçları incelendiğinde; rasyonlara yağ asitlerinin kalsiyum tuzlarıyla bağlı formlarının ilavesi sonucu genelde tohumlama başına düşen gebelik oranlarının arttığı, açık gün sayısının yani buzağılamadan sonra tekrar gebe kalana kadar geçen sürenin kıaldığı görülmektedir. Fakat diğer yağ kaynaklarında ise sonuçların çelişkili olduğu anlaşılmaktadır (Türkmen 2016).

Rasyonlara yağ ilavesinin doğumdan sonra ilk tohumlama başına gebelik oranlarını olumsuz etkileyebileceğini, bu durumun erken laktasyon dönemindeki süt artışından kaynaklandığı bildirilmiştir (Erikson ve ark. 1992). Laktasyonda bulunan ve düşük fertilitedeki süt sığırları ile yapılan bir çalışmada, EPA ve DHA yönünden zengin balık unu ile beslenenlerde gebe kalma oranlarında (% 31.9-41.3) iyileşme görüldüğü rapor edilmiştir (Burke ve ark. 1997). Uzun zincirli yağ asiti kaynağı olan kuyruk yağı ile

yapılan bir çalışmada, bu yağ kaynağının daha güçlü östrus belirtilerinin görülmesini teşvik ettiği belirlenmiştir (Scott ve ark. 1995).

Süt ineklerinin reproduksiyonunda yağ asitlerinin rol oynadığı mekanizmalar özetlenecek olursa ;

Bunlar, rasyonun enerji yoğunluğunun iyileşmesi, değişmiş folikül gelişimi (Petit ve ark. 2002, Staples ve ark. 1998), artmış progesteron konsantrasyonu, gebeliğin anne tarafından tanınması ve çevresini luteolitik sinyallerden koruma (Mattos ve ark. 2000), doğum sonrası ilk ovulasyon için geçen sürenin kısalması, gebelik oranlarında artma ve gebelik başına tohumlama sayısında düşme, iki doğum aralığının kısalması, embriyonik ölüm oranlarında azalma (Beam ve Butler 1997, Lammoglia ve ark. 1997) ve embriyo kalitesinde artmayı (Cerri ve ark. 2009) kapsar. Dolayısıyla süt sığırı rasyonlarında esansiyel yağ asitleri, reproduktif performansın sürdürülmesinde anahtar besin maddeleri olarak uygulanmaktadır (Thatcher ve ark. 2004).

Bütün bu literatür bilgilerine dayanarak, rasyonlardaki dengesizlikler, hayvanın temel besin madde ihtiyacını karşılama bakımından sorunlara neden olacağı gibi özellikle omega-3 yağ asitlerince dengesiz besleme sonucu çeşitli üreme fonksiyonlarında da olumsuzluklar görülebilir. Bu olumsuzlukların neden olacağı ekonomik kayıpları engelleyebilmek için rasyonlar hazırlanırken hayvanların içerisinde bulunduğu üreme periyodu ve rasyonda kullanılacak yem maddelerinin besin madde içeriği ve temelde enerji kaynağı olan yağların yağ asiti profilleride göz önünde bulundurulmalıdır (Şirin ve Kuran 2004).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada, donör inek rasyonlarına ilave edilen omega-3 (α -linolenik asit) çoklu doymamış yağ asitinin süperovulasyon performansı, embriyo sayı ve kalitesi, korpus luteum sayı ve çapları ile kan progesteron seviyeleri üzerine etkileri araştırıldı. Çalışma, Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Hayvan Yetiştiriciliği ve Islahı Bölümü Hayvancılık İşletmesinde yürütüldü.

3.1. Gereç

3.1.1. Hayvan Materyali ve Seçimi

Çalışmada hayvan materyali olarak, Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Hayvan Yetiştiriciliği ve Islahı Bölümü, Hayvancılık İşletmesinde bulunan, benzer canlı ağırlıkta (500-550 kg) ve benzer vücut kondisyon skoruna (2.7-3.0) sahip, zoonoz hastalıklardan ari, uterus enfeksiyonları bulunmayan, toplam 20 baş Siyah Alaca inek kullanıldı. Denemede kullanılan inekler, laktasyonun 8-20. haftalarında bulunan, yaşları 42-54 aylık arasında olan, benzer laktasyon döneminde (2-3) ve benzer süt verimine (ortalama 28 kg/gün) sahip hayvanlardan oluşmuştur.

Araştırmanın yürütülmesi için Mustafa Kemal Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu'nun 15/07/2015 tarih ve 2015/6-11 no'lu kararı ile onay alındı.

3.1.2. Yem Materyali ve Katkı Maddesi Temini

Hayvanlar, kaba ve kesif yemlerin birlikte verildiği TMR (Toplam Karma Rasyon, Total Mixed Ration) ile beslendi (Çizelge 3.1.2.2.). TMR'da kullanılan kesif yemler hayvancılık işletmesindeki yem ünitesinde hazırlandı. Silaj ve buğday samanı Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'ne ait tarım arazilerinden elde edildi. Fiğ kuru otu

ise piyasadan satın alındı. Denemede kullanılan yemlerin bileşimi AOAC (1998)'de bildirilen yönteme göre belirlendi.

Deneme grubunda katkı maddesi olarak, çoklu doymamış yağ asiti, omega-3 kaynağı (C18:3 n-3 linolenik asit) olarak keten tohumu içeren Flaxpro® adlı ticari ürün (Volac International Limited, UK) kullanıldı. Türkiye'de ticari olarak piyasada bulunmayan ürün, firmanın desteğiyle ithal edildi. Denemede kullanılan katkı maddesinin beyan edilen besin madde bileşimi Çizelge 3.1.2.1.'de görülmektedir.

Çizelge 3.1.2.1. Denemede Kullanılan Katkı Maddesinin Bileşimi, (%).

KM	HY	HP	HS	HK	Kalsiyum	ME (MJ/kg KM)
96	50	15	7.5	8	5	23

Flaxpro, rumen korunmuş yağ ile omega-3 yağ asiti bakımından zengin keten tohumunun kombinasyonundan oluşan, enerjice yoğun bir üründür (23 MJ/kg KM). Katkı maddesi, % 50 ham yağ ve 166 g/kg oranında C18:3 n-3 linolenik asit içeriğine sahiptir.

Kontrol grubu hayvanlarının rasyonlarına omega-3 yağ asiti kaynağı içeren katkı maddesi ilavesi yapılmadı. Deneme grubu hayvanlarının omega-3 kaynağı yönünden zengin keten tohumu içeren katkı maddesinden 0.9 kg/gün tüketmesi sağlandı. Deneme Grubu rasyonlarına KM bazında % 3.77 oranında katkı maddesi ilavesi yapıldı. Hayvanların, 149.4 g/gün-baş düzeyinde omega-3 tüketmesi sağlandı. Buna göre deneme grubu hayvanlarının toplam rasyon KM'sinde % 0.66 oranında omega-3 içerdi. Katkı maddesinin günlük verilme miktarları, firmanın önerisi ve literatür bildirimlerine göre belirlendi. Katkı maddesi hayvanların günlük tüketebilecekleri yeme karıştırılarak, iki öğün halinde verildi.

Denemede hayvanlar için hazırlanan rasyonların bileşimi ve besin madde içeriği Çizelge 3.1.2.2.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1.2.2. Denemede Hayvanlara Verilen TMR'nin Bileşimi ve Besin Madde İçeriği.

Yemler	Kontrol Grubu %, KM	Deneme Grubu %, KM
Mısır Silajı	26.50	27.04
Buğday Samanı	12.00	14.36
Fiğ Kuru Otu	13.73	14.09
Arpa	10.20	10.47
Mısır	23.54	13.25
α -linolenik asit kaynağı katkı maddesi	-	3.77
Mısır Gluteni	1.86	1.91
Soya Küspesi	11.59	11.89
Buğday Kepeği	-	3.07
Kireçtaşı	0.5	0.04
Tuz	0.04	0.04
Vit-Min. Karması*	0.04	0.04
Besin madde içeriği, %		
KM, %	51.5	51.10
HP % KM	15.1	15.1
HY % KM	3.27	6.24
α -linolenik asit (katkı)	-	0.66
α -linolenik asit g/gün-baş	-	154.8
NDF, % KM	38.1	38.3
ADF, % KM	23.3	23.4
NEI, Mcal/kg KM	35.21	35.21
KM kg/gün:	23.2	22.6
RasyondaKaba yem/Konsantre yem	52.1	55.4

*Vitamin-mineral karışımı, süt ineklerinin vitamin-mineral gereksinimlerini karşılamak için kullanılan bir premix olup; yapısında Vitamin A: 12.000.000 IU, Vitamin D₃: 240.000 IU, Vitamin E: 5.000 mg, Vitamin B1: 500 mg, Vitamin B6: 1.000 mg/, Niasin: 40.000 mg, Folik Asit: 100 mg, D-Biotin: 200 mg, Antioksidan: 3.500 mg; Cu: 6.000 mg; Zn: 15.000 mg; Fe: 10.000 mg; MCP Fosfor: 65.000 mg; I: 100 mg; Co: 40 mg; Mg: 20.000 mg; Mn: 15.000 mg; Se: 200 mg; CaCO₃:598.150 mg; Organik Se: 50 mg; Organik Fe: 4.000 mg; Organik Cu: 2.000 mg; Organik Zn: 8.000 mg; Organik Mn: 6.000 mg; Aktif maya: 4x10¹⁰;Beta karoten: 4.000 mg; Vanilya aroması: 7.000 mg/ 5 kg karışım.

3.1.3. Barınaklar ve Bakım Şartları

Hayvanlar yarı açık ahır sisteminde barındırıldı, ahırlara düzenli olarak temizlik ve dezenfeksiyon işlemleri uygulandı. Hayvanlara otomatik suluk vasıtasıyla *ad libitum* olarak su sağlandı. Hayvanlar bireysel bölmelere alınarak yemleme burada yapıldı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Deneme Gruplarının Oluşturulması

Araştırma, her biri 10'ar adet hayvandan oluşan, kontrol ve omega-3 yağ asiti kaynağı olarak keten tohumu içeren katkı maddesi ile beslenen deneme grubu olmak üzere iki grup ile yürütüldü. Araştırma gruplarında, her bir hayvan için, bireysel besleme bölmeleri olan ayrı bir padok bölmesi oluşturuldu.

3.2.2. Hayvanların Beslenmesi

Araştırmada, hayvanlara bireysel yemleme yapıldı. Deneme başlangıcında, hayvanlara 10 gün süresince yeme alıştırmaya dönemi uygulandı. Alıştırma döneminden sonra 30 gün boyunca, kontrol grubu, hazırlanan temel rasyonla, deneme grubu ise α -linolenik asit yağ asiti kaynağı ilaveli rasyonla beslendi (Çizelge 3.1.2.2.). Albuquerque ve ark. (2012)'nin çalışmasında belirtildiği yöntemle, ancak bunlardan farklı olarak 40. günün sonunda süperovulasyon protokolü uygulamalarına başlandı. Albuquerque ve ark. (2012) çalışmalarında, beslemenin 30. günü süperovulasyon protokolüne başlamışlardır. Süperovulasyon protokolü uygulamaları esnasında da besleme programı devam etmiştir.

Araştırmanın hayvan denemesi aşaması; 10 gün yeme alıştırmaya dönemi + 30 gün yem yedirme dönemi + 20 gün süperovulasyon + uterus yıkama olmak üzere toplam 60 gün sürdü.

Araştırmada kullanılan kontrol ve deneme grubu rasyonları izokalorik ve izonitrojenik olarak hazırlandı (NRC 2001). Rasyonlar hazırlanırken grupların ortalama canlı ağırlık, süt verimi, süt yağı, vücut kondisyon skoru değerleri dikkate alınarak NRC (2001) tarafından tanımlanan formüller aracılığıyla, besin madde gereksinimi ve kuru madde tüketimleri hesaplandı. Hesaplanan bu değerler kullanılarak rasyonlarda kaba/kesif yem oranı en az 40/60, en fazla 60/40 olacak şekilde dengelenerek, TMR oluşturuldu.

Hayvanların günlük tüketebilecekleri TMR miktarının belirlenmesi için denemenin alıştırmaya döneminde, toplam verilen yem miktarından sabah ve akşam hayvanların önünde

kalan yem miktarı tartılarak çıkarıldı. Böylece hayvanların günlük tüketebileceği TMR miktarı belirlendi. Hayvan başına ortalama 40 kg/gün-hayvan TMR verildi.

Deneme süresince hayvanlar ayrı padok bölmelerine alınarak bireysel yemleme yapıldı. Hazırlanan rasyonlar tartılarak iki eşit miktara bölündü, sabah 06.30 ve akşam 18.30 saatlerinde olmak üzere iki öğün halinde verildi.

3.2.3. Ovaryumların Ultrasonografi Yöntemiyle Muayenesi

Çalışmada kullanılacak donör ineklerin uterus ve ovaryumları; besleme programına başlamadan önce Zachut ve ark. (2010)'nın belirttiği şekilde fakat 11 gün ara ile 2 kez taşınabilir ultrason (Ultrasonic Scanner, HS-101V, Honda, Japan) kullanılarak patolojik veya kistik yapılar yönünden muayene edildi. Zachut ve ark. (2010) çalışmalarında, ovaryumların ultrasonografi yöntemiyle muayenesini 5 gün arayla yapmışlardır. Muayene sonrası ovaryum ve uterus yapıları uygun olan hayvanlar çalışmaya alındı.

Uterusların yıkama (flushing) günü, embriyoların toplama işlemi öncesinde de ultrason (Ultrasonics Convex Scanner, HS-2000, Honda, Japan) ile ovaryumların muayenesi yapılarak, her iki ovaryum üzerindeki korpus luteum sayı ve büyüklükleri (mm) ile anovulatör folikül sayı ve büyüklükleri (mm) tespit edilerek kayıt altına alındı.

3.2.4. Süperovulasyon Protokolü

Deneme rasyonlarının verilmeye başlanmasından sonraki 40. günde her iki gruptaki tüm hayvanlar süperovulasyon programına alınmıştır. Uygulanan protokol Şekil 3.2.4.1 ve Çizelge 3.2.4.1'de gösterilmiştir.

belirtildiği üzere, FSH hormon enjeksiyonları 4 gün boyunca 12 saat arayla ikişer kez, azalan miktarlarda intra muskuler (i.m.) yapıldı.

Süperovulasyon protokolünün 3-4. günü, var olan korpus luteumun regresyonu ve ovulasyonun sağlanması amacıyla, Bó ve ark. (2002)'dan farklı olarak fakat Thangavelu ve ark. (2007) çalışmalarında belirtildiği gibi 24 saat arayla iki kez 2 cc i.m. PGF2 α (50 mg klopustenole, Lutelen, Topkim, Türkiye) enjeksiyonu yapıldı. FSH hormon uygulamasının 3. günü akşamı kontrollü ilaç salınımı yapan gereç (PRID) çıkarıldı.

Son FSH uygulamasını takip eden 12. 24. ve 48. saatlerde östrus (kızgınlık) gösteren donör inekler 3 kez tohumlandı. Hayvanlara ovulasyonun sağlanması amacıyla, 2. ve 3. tohumlamayla birlikte 2.5 cc i.m. GnRH (0.01 mg buserelin, Receptal, MSD Animal Health, Almanya) enjeksiyonu yapıldı.

3.2.5. Kan Numunelerinin Alınması

Kan örnekleri süperovulasyon protokolleri esnasında FSH hormon uygulamasını takiben 3. günde yapılan 2 cc PGF2 α enjeksiyonu öncesinde ve uterus yıkama günü, flushing uygulamalarına başlamadan önce, olmak üzere 2 defa alınmıştır. Kan numuneleri hayvanların kuyruk altı venasından (vena coccygea), kırmızı kapaklı tüplere (9 ml, Aysset A.Ş., Adana / Türkiye) alınmıştır. Alınan kanların serumları ayrılarak, 1.5 ml'lik ependorf tüpler içerisinde, progesteron hormon analizi yapılınca kadar embriyo transfer laboratuvarındaki derin dondurucuda -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.6. Uterus Yıkama

Süperovulasyonla in vivo embriyo üretiminde östrusun tespit edildiği gün 0. gün kabul edildi ve östrus siklusunun 7. gününde (Mikkola ve ark. 2005, Sağırkaya 2009) embriyoların toplama işlemi, Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Embriyo Transfer Laboratuvarı önünde bulunan yıkama için özel hazırlanmış travaylarda uterusun cerrahi olmayan yıkama yöntemiyle gerçekleştirildi.

Uterus yıkama işleminden önce, ultrason ile ovaryumların muayenesi yapılarak, her iki ovaryum üzerindeki korpus luteum sayı ve büyüklükleri (mm) ile anovulatör folikül sayı ve büyüklükleri (mm) tespit edildi. Bu işlem sırasında ultrasonun ekranı dondurularak, ovaryum üzerindeki folikül ve luteal yapıların ölçümleri yapıldıktan sonra, görüntülerinin çıktısı yazıcı cihazı vasıtasıyla elde edildi.

Donör ineklere, bağırsak peristaltliğini önlemek amacıyla, 80-120 mg lidokain HCl (4-6 cc, L-Anestin, Alke, Türkiye) kullanarak üst epidural anestezi uygulandı. Anestezi uygulamasından önce enjeksiyon bölgesinin kılları traş edildi ve % 70'lik alkol ile steril hale getirildi. Anestezik madde (L-Anestin) etkisini gösterdikten sonra kuyruk öne doğru çekilerek travaya bağlandı.

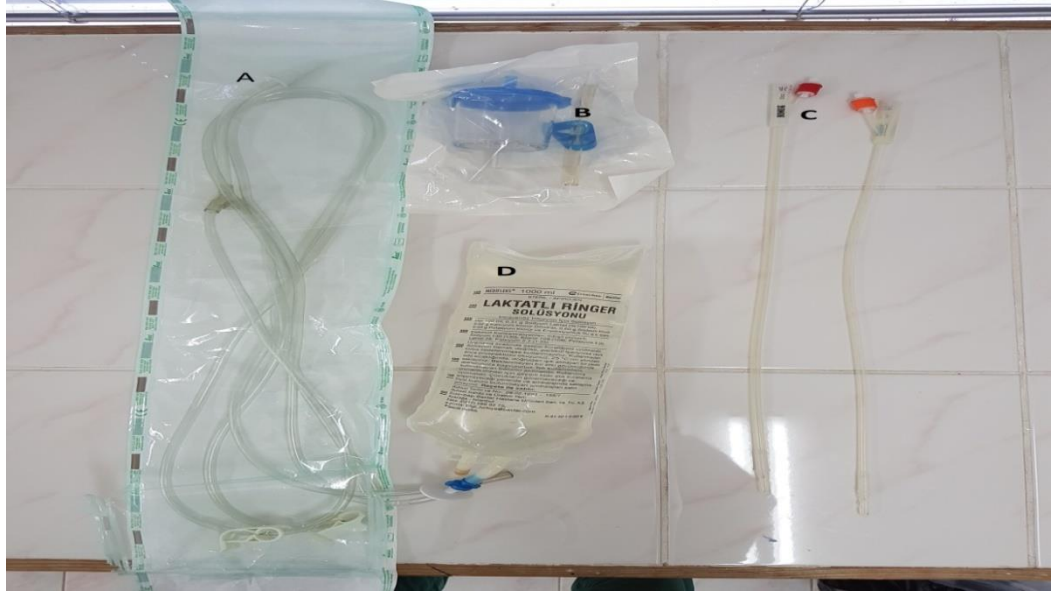
Uterus yıkama solusyonu, embriyo transfer laboratuvarında steril olarak hazırlandı. Yıkama solusyonu olarak % 0.1 kanamisin (Kanovet, Vetaş, Türkiye) + % 1 fetal buzağı serumu (FCS, Sigma, Almanya) içeren laktatlı ringer (Polifleks®, 1000 cc, Polifarma, Türkiye) kullanılmıştır. 3 uçlu Y şekilli hortumun (E27, Agtech, ABD) bir ucuna yıkama solusyonunun bulunduğu plastik şişe, diğer ucuna da solusyonun toplanacağı 1000 ml'lik steril cam şişenin veya 250 ml'lik emcom filtre (Agtech Zona Filter, Radiated, CAT. #D03, ABD) bağlantısı sağlandı. 3 uçlu Y şekilli hortum ile bağlantısı sağlanan yıkama solusyonu bulunan 1000 ml'lik plastik şişe ineğin sırt çizgisinden en az 1 m yükseklikte olacak şekilde serum askılığına takıldı. Yıkama solusyonunun toplanacağı steril cam şişe ise ineğin karın bölgesinden aşağıda olacak şekilde sıcaklığı 38.5 °C olan su banyosuna konuldu.

Uterusa yıkama kateteri yerleştirilmeden önce, vulva ve çevresinin temizliği yapıldıktan sonra % 70'lik alkol ile antisepsi tamamlandı. Uterus yıkama kateteri olarak kullanılan 2 yollu silikon foley kateteri (30 cc, Bioniche, Kanada) işlem için hazırlandı. Bu amaçla foley kateteri için uygun olan çelik stile (E24A, Agtech, ABD) 2 yollu foley kateterinin içerisine yerleştirildi. Stilenin foley kateterinin kuru olan lumeninden kolayca yerleştirilip tekrar çıkarılabilmesi için, 10-15 ml yıkama solusyonu ile kateterin içerisi yıkandı. Foley kateteri ile serviks geçildikten sonra, hangi kornu yıkanacaksa o kornu yönünde, bifirkasyo noktasının yaklaşık 5 cm ilerisine, kateterin özel balonu 15-20 cc hava ile şişirilip sabitlendi. Katetere hafif çekme ve itme hareketleri uygulandı ve kateterin sabitlendiğinden emin olunduktan sonra stile çıkartıldı.

Yıkama işlemlerine geçilebilmesi için, 3 uçlu Y hortumunun ucu foley kateterinin dışarıda kalan uç kısmına yerleştirildi. Bu şekilde 3 uçlu Y hortumunun yıkama solusyonu, emcom filtre ve foley kateteri arasındaki bağlantı tamamlanmış oldu. Başlangıçta kornunun % 70'ini geçmeyecek şekilde uterusu 50-100 ml kadar yıkama solusyonu verildi. Bu işlemi yaparken 3 uçlu Y hortumunun cam şişe tarafındaki konektörü kapatıldı, solusyonun geldiği kısımdaki ise açık tutuldu. Uterusa verilen solusyon dışarı alınırken ise cam şişe tarafındaki konektör açıldı diğeri ise kapatıldı. Solusyon geri alınırken uterusu hafif masaj yapıldı. Bu şekilde 2-3 yıkamadan sonra, kornu elle palpe edilerek tamamının dolması sağlandı. Seçilen kornu yıkandıktan sonra aynı aşamalar diğerkornu uteri için de uygulandı. Bu işlemler sonunda uterusun her bir kornusu 300-500 ml yıkama solusyonu ile 5-6 kez yıkandı.

Steril cam şişede toplanan yaklaşık 1000 ml'lik yıkama solusyonu, embriyoların kalite ve safha açısından değerlendirilmesi için embriyo transfer laboratuvarına götürüldü.

Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra gebeliğin sonlandırılması için 2 cc i.m. PGF_{2α} enjeksiyonu ve uterus enfeksiyonlarının önlenmesi için de 500 mg benzatin sefapirin (19 g., Metricure®, MSD Animal Health, Türkiye) intra uterin olarak uygulandı.



Şekil 3.2.6.1. Uterus Yıkamasında Kullanılan Malzemeler.
A: Y Hortumu, B: Filtre, C: Foley Kateter, D: Laktatlı Ringer

3.2.7. Embriyoların Aranması ve Değerlendirilmesi

Uterus yıkama işlemi sonrasında embriyo transfer laboratuvarına getirilen yıkama solusyonu zona filtresi (emcom filtre) kullanılarak süzüldü. Filtrede kalan sıvı 60 ml'lik arama petrilere (Agtech Square Search Dish, VWR, CAT#D09A, ABD) aktarıldı. Holding solusyonu (TCM-199 (M7528, Sigma, Almanya) + L-glutamin (G5763, Sigma, Almanya) + Gentamisin (G1264, Sigma, Almanya) + % 20 FCS) kullanılarak, filtrenin içi iyice yıkandı. Arama petrilere sıcaklığı ayarlanmış ısıtma tablalı ışık kaynağı altta olan stereo mikroskopta (Leica, S8APO, Japan) incelendi (Şekil 3.2.7.1.). Tespit edilen embriyolar arama solusyonundan cam pastör pipeti vasıtasıyla alınarak, içinde holding solusyonu bulunan 33 mm'lik küçük petrilere aktarıldı. Bu petrilere embriyoların değerlendirilmesi aşamasına kadar sıcaklığı 38.5 °C'ye ayarlanmış % 5 CO₂'li inkübatörde (Binder, ABD) bekletildi. Bulunan embriyolar kalite ve gelişim safhalarına göre sınıflandırılarak, elde edilen bilgiler kayıt altına alındı. Bu işlemler her bir inek için ayrı ayrı uygulanmıştır.



Şekil 3.2.7.1. Mikroskop Altında 60 mm'lik Petride Embriyo Aranması.

Bulunan embriyolar kalite (Kaymaz 2015, Silva ve ark. 2009) ve gelişim safhalarına (Kanagawa ve ark. 1995) göre aşağıdaki gibi sınıflandırılmıştır.

A. Kalitelerine göre embriyolar

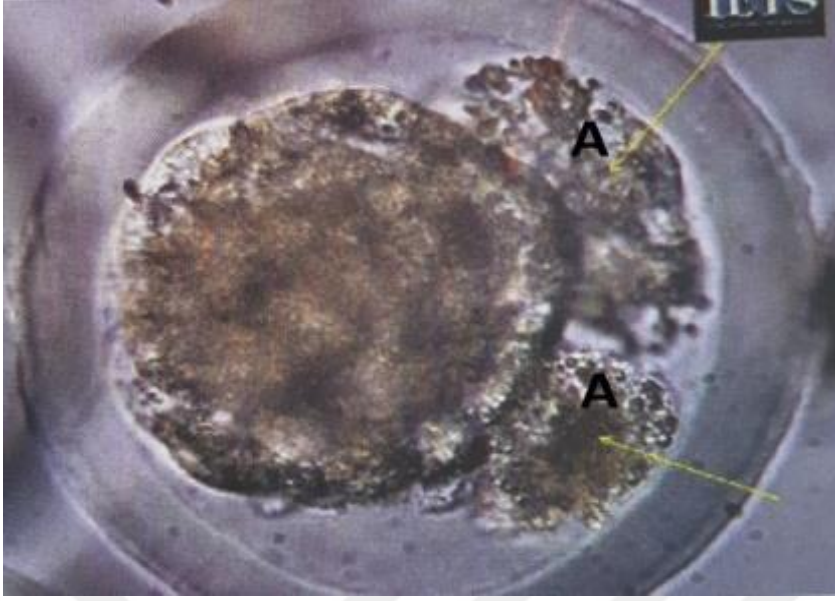
1. Transfer edilebilir embriyolar

a- Çok iyi kalite embriyolar (1): Normal gelişim gösteren, zonası sağlam, homojen dağılımlı, küresel embriyolardır. Her bir blastomer yuvarlak şekilli, uniform büyüklük renk ve yoğunluktadır. Hücreler arasındaki düzensizlik çok düşük seviyededir ve yaşayan embriyonik hücre oranı % 85 ve üzerindedir (Şekil 3.2.7.2.).



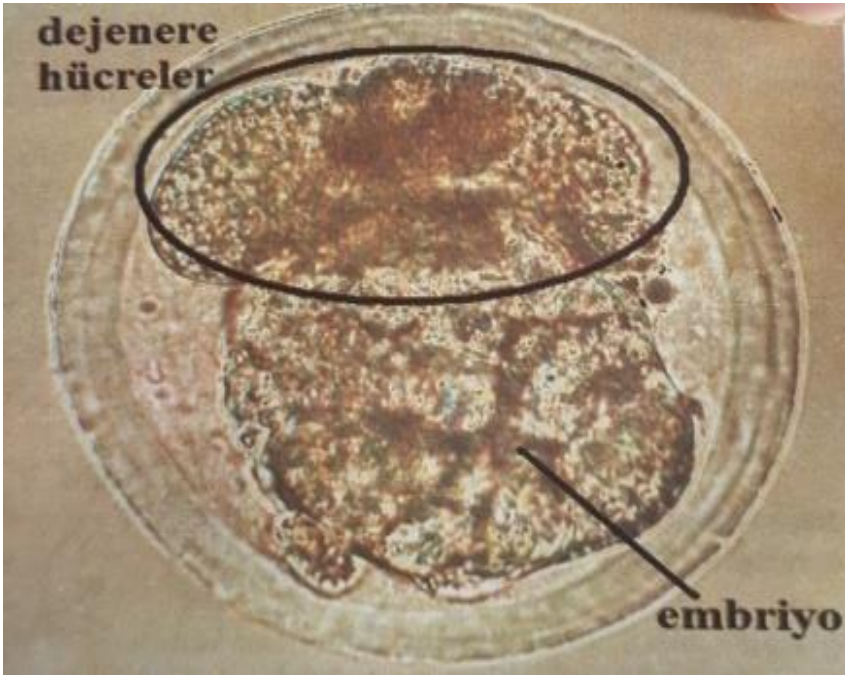
Şekil 3.2.7.2. Birinci Kalite Embriyo (IETS 2010).

b- İyi kalite embriyolar (2) : Embriyonun genel görünümünde ve blastomerlerin büyüklük, renk ve yoğunluğunda orta seviyede düzensizliklerle karakterizedir. Embriyodaki hücrelerin % 50'si yaşayan hücrelerden oluşur (Şekil 3.2.7.3.).



Şekil 3.2.7.3. İkinci Kalite Embriyo (IETS 2010). A: Dejenere Hücreler.

c- Sağlıksız (vasat) embriyolar (3): Embriyonik kütlelerin şeklinde ya da blastomerlerin büyüklük, renk ve yoğunluğunda fazla miktarda düzensizlikler görülür. Embriyonik hücrelerin % 25'i yaşayan hücrelerden oluşur (Şekil 3.2.7.4.).



Şekil 3.2.7.4. Üçüncü Kalite Embriyo (Kaymaz 2015).

2. Transfer için uygun olmayan embriyolar

a- Ölü veya dejenere embriyolar (4): İyi embriyo vasıflarından sapma gösterenler, vezikül sayısı artmış, dejenere bölgeleri % 50'den fazla olan embriyolardır. Dejenere embriyolar, oositler (UFO: fertilize olmamış oosit) ve 1 hücreli embriyoları içermektedir (Kaymaz 2015, Silva ve ark. 2009) (Şekil 3.2.7.5. ve Şekil 3.2.7.6.).



Şekil 3.2.7.5. Dejenere Embriyo (Kaymaz 2015).



Şekil 3.2.7.6. UFO (Unfertilize oosit) (Kaymaz 2015).

B. Gelişim safhalarına göre embriyolar

a- Morula: Blastomer sayısının 16'nın üzerine çıkmasıyla embriyo morula adını alır. Tek tek hücreleri ayırt etmek güçtür. Perivitellin boşluk geniş değildir.

b- Kompakt Morula: Blastomerler tamamen birleşmiş ve yoğun kitle olarak mikroskopta görülmektedir. Perivitellin boşluk morula safhasına göre % 60-70 oranında genişlemiştir.

c- Erken Blastosist: Blastosist kavitesi mikroskopta görülebilir durumdadır. Embriyo halka biçimlidir. Koyu bölgelerden inner-cellmass, açık renkli bölgelerden trofoblast hücreleri şekillenir.

d- Blastosist: Trofoblast hücre katman ayrımı daha belirgindir. Daha koyu görünümlü inner-cellmass oluşur. Perivitellin boşluk tamamen dolmuş durumdadır.

e- Genişlemiş (Expanded) Blastosist: Embriyonun çapı yaklaşık 1.5 kat genişlemiştir. Zona pellicuda 1/3 oranında incelmıştır.

f- Zona Serbest (Hatched) Blastosist: Blastosist kavitesi tamamen genişlediğinde embriyo hücreleri incelmış Zona Pellisuda'yı kırar. Embriyo Zona'dan tamamen ayrılmış olabilir. Zonasından çıkmış embriyoda blastosöl çöküntüler bariz olarak tespit edilebilir (Kanagawa ve ark. 1995).

3.2.8. Kan-Progesteron Düzeylerinin Ölçümü

Embriyo transfer laboratuvarında -20 °C'de muhafaza edilen serum örnekleri çözdürüldükten sonra, progesteron ölçümleri için Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastanesi Merkez Laboratuvarı'na getirildi. Kan progesteron düzeylerine, DXI800 hormon analiz cihazı (Beckman Coulter, California, ABD) ve Beckman Coulter progesteron kiti kullanılarak Chemmilunesons yöntemiyle bakılmıştır.

3.3. İstatiksel Analizler

Grupların karşılaştırılması student t testi, mann whitney u testi ve z testi ile yapılmıştır. Grup 1 ve Grup 2’de elde edilmiş olan embriyo sayılarının karşılaştırılması Ki-Kare testi kullanılarak yapılmıştır. Verilerin değerlendirilmesinde SPSS 11.5 paket programı kullanılmıştır (SPSS 1999).

4. BULGULAR

4.1. Kan Progesteron Düzeyleri

Deneme ve kontrol grubundaki her bir hayvandan süperovulasyon esnasında ve uterus yıkama (flushing) günü alınan kan örneklerinden elde edilen progesteron hormon analiz sonuçları Çizelge 4.1.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1.1. Kan-Progesteron Düzeyleri (ng/ml).

Hayvan No	Kan-Progesteron Düzeyleri (ng/ml)		Hayvan No	Kan-Progesteron Düzeyleri (ng/ml)	
	Süperovulasyon Esnasında	Flushing Günü		Süperovulasyon Esnasında	Flushing Günü
D1	0.1	7.81	K1	0.84	22.09
D2	1.01	11.71	K2	1.26	2.8
D3	0.00	6.31	K3	3.05	8.62
D4	0.00	5.46	K4	1.85	14.06
D5	0.00	4.83	K5	3.9	11.39
D6	2.51	2.84	K6	3.61	7.47
D7	3.55	10.8	K7	2.91	--
D8	2.13	2.18	K8	0.12	--
D9	1.01	9.18	K9	0.00	3.86
D10	0.36	0.00	K10	---	----

D: Deneme grubundaki hayvanlar, K: Kontrol grubundaki hayvanlar.

Gruplar arasındaki progesteron düzeyleri karşılaştırıldığında; Çizelge 4.1.2'de belirtildiği üzere süperovulasyon esnasında ortalama progesteron düzeyi deneme grubunda 1.06 ± 0.39 ng/ml, kontrol grubunda 2.19 ± 0.48 ng/ml bulundu. Flushing günü ise deneme grubunda 6.79 ± 1.12 ng/ml, kontrol grubunda 10.04 ± 2.45 ng/ml olarak bulundu.

Çizelge 4.1.2. Ortalama Kan-Progesteron Düzeyleri (ng/ml).

Gruplar	Süperovulasyon Esnasında X±Sx	Flushing Günü X±Sx
Deneme	1.06±0.39	6.79±1.12
Kontrol	2.19±0.48	10.04±2.45

Gruplar arasındaki progesteron düzeyleri, student t testi ile karşılaştırıldığında; flushing günü ve süperovulasyon esnasındaki progesteron düzeyleri bakımından istatistiki olarak önemli bir fark yoktur ($p>0.05$).

4.2. Süperovulasyon Yanıtları

Uterus yıkama günü, her bir donör ineğin ovayumları ultrason ile muayene edilerek, tespit edilen korpus luteum ile anovulatör folikül sayı ve büyüklükleri Çizelge 4.2.1. ve Çizelge 4.2.2.'de gösterilmiştir. Tespit edilen luteal doku yani korpus luteum (CL) ve anovulatör folikülün büyüklükleri (mm), ultrason görüntüsü dondurularak, birbirine en uzak noktalardan alınmış iki farklı ölçümün ortalaması alınarak hesaplandı.

Çizelge 4.2.1. Kontrol Grubuna Ait Korpus Luteum ve Folikül Sayı-Çapları.

Hay- van No	KONTROL GRUBU					
	CL Sayısı	CL Çapları (mm)		Anovulatör Folikül Sayısı	Anovulatör Folikül Çapları (mm)	
K1	32	Ç1	24.1x17.7 mm (ort.: 20.90 mm)	4	Ç1	14.6x19 mm (ort.: 16.8 mm)
		Ç2	21.8x13.5 mm (ort.: 17.65 mm)			
		Ç3	14.7x17.5 mm (ort.: 16.10 mm)			
		Ç4	17.5x13.7 mm (ort.: 15.60 mm)			
		Ç5	14.0x12.9 mm (ort.: 13.45 mm)			
		Ç6	12.7x13.0 mm (ort.: 12.85 mm)			
		Ç7	10.1x16.9 mm (ort.: 13.50 mm)			
K2	16	Ç1	19.9x17.5 mm (ort.: 18.70 mm)	4	Ç1	25.7x26.6 mm (ort.: 26.65 mm)
		Ç2	14.7x14.7 mm (ort.: 14.70 mm)		Ç2	19.0x21.0 mm (ort.: 20.00 mm)
		Ç3	10.9x17.4 mm (ort.: 14.15 mm)		Ç3	21.8x17.1 mm (ort.: 19.45 mm)
		Ç4	10.7x15.1 mm (ort.: 12.90 mm)		Ç4	18.0x18.7 mm (ort.: 18.35 mm)

Çizelge 4.2.1.Devam Kontrol Grubuna Ait Korpus Luteum ve Folikül Sayı-Çapları.

K3	19	Ç1	15.7x20.5 mm (ort.: 18.1 mm)	1	Ç1	13.7x13.2 mm (ort.: 13.45 mm)
		Ç2	17.7x14.0 mm (ort.: 15.85 mm)			
		Ç3	17.5x14.9 mm (ort.: 15.20 mm)			
		Ç4	12.2x12.7 mm (ort.: 12.45 mm)			
		Ç5	11.1x16.4 mm (ort.: 13.75 mm)			
K4	24	Ç1	19.0x11.4 mm (ort.: 15.20 mm)	1	Ç1	14.0x14.1 mm (ort.: 14.05 mm)
		Ç2	13.8x11.7 mm (ort.: 12.75 mm)			
		Ç3	25.2x14.0 mm (ort.: 19.60 mm)			
		Ç4	16.8x15.8 mm (ort.: 16.30 mm)			
		Ç5	11.6x7.8 mm (ort.: 9.70 mm)			
K5	13	Ç1	18.1x12.5 mm (ort.: 15.30 mm)	3	Ç1	21.8x15.7 mm (ort.: 18.75 mm)
		Ç2	18.3x12.5 mm (ort.: 15.40 mm)		Ç2	20.1x23.4 mm (ort.: 21.75 mm)
					Ç3	18.3x23.5 mm (ort.: 20.90 mm)
K6	6	Ç1	17.0x15.0 mm (ort.: 16.00 mm)	2	Ç1	25.1x24.1 mm (ort.: 24.6 mm)
		Ç2	17.9x9.3 mm (ort.: 13.60 mm)		Ç2	12.0x16.2 mm (ort.: 14.1 mm)
		Ç3	13.7x9.9 mm (ort.: 11.80 mm)			
		Ç4	10.0x8.9 mm (ort.: 9.45 mm)			
		Ç5	6.8x9.6 mm (ort.: 8.20 mm)			
K7	10	Ç1	12.5x16.4 mm (ort.: 14.45 mm)	3	Ç1	14.6x19 mm (ort.: 16.95 mm)
		Ç2	15.0x18.2 mm (ort.: 16.60 mm)			
		Ç3	12.7x17.5 mm (ort.: 15.10 mm)			
		Ç4	15.1x16.0mm (ort.: 15.55 mm)			
K8	5	Ç1	15.7x14.1 mm (ort.: 14.90 mm)	1	Ç1	17.6x18.4 mm (ort.: 18.00 mm)
		Ç2	13.9x15.1 mm (ort.: 14.50 mm)			
		Ç3	11.7x10.2 mm (ort.: 10.95 mm)			
K9	7	Ç1	22.9x16.3 mm (ort.: 19.60 mm)	1	Ç1	19.7x17.0 mm (ort.: 18.35 mm)
		Ç2	15.2x19.7 mm (ort.: 17.45 mm)			
		Ç3	15.2x11.8 mm (ort.: 13.50 mm)			
K10	---			----		
TOP-LAM	132			20		

Ç:Korpus luteum ve folikül çaplarını belirtir.

Çizelge 4.2.2. Deneme Grubuna Ait Korpus Luteum ve Folikül Sayı-Çapları.

Hay- van No	DENEME GRUBU					
	CL Sayısı	CL Çapları (mm)		Anovulator Folikül Sayısı	Anovulator Folikül Çapları (mm)	
D1	28	Ç1	16.2x15.7 mm (ort.:15.95 mm)	6	Ç1	21.3x15.8 mm (ort.:18.55 mm)
		Ç2	13.6x17.6 mm (ort.:15.60 mm)		Ç2	16.2x15.7 mm (ort.:15.95 mm)
		Ç3	20.0x15.0 mm (ort.:17.50 mm)		Ç3	20.6x21.3 mm (ort.:20.95 mm)
D2	11	Ç1	14.3x14.0 mm (ort.: 14.15 mm)	-----		
		Ç2	11.7x11.3 mm (ort.: 11.50mm)			
		Ç3	11.2x13.7 mm (ort.: 12.45 mm)			
		Ç4	13.0x15.2 mm (ort.: 14.10mm)			
		Ç5	13.6x12.9 mm (ort.: 13.25 mm)			
		Ç6	12.8x13.6 mm (ort.: 13.20mm)			
		Ç7	12.4x15.1 mm (ort.: 13.75 mm)			
		Ç8	10.5x11.2 mm (ort.: 10.85 mm)			
		Ç9	11.3x10.5 mm (ort.: 10.90mm)			
		Ç10	10.7x13.8 mm (ort.: 12.25 mm)			
		Ç11	10.9x11.2 mm (ort.: 11.05 mm)			
D3	5	Ç1	20.5x12.8 mm (ort.: 16.65 mm)	-----		
		Ç2	17.0x13.7 mm (ort.: 15.35 mm)			
		Ç3	11.4x10.2 mm (ort.: 10.80mm)			
		Ç4	9.5x11.4 mm (ort.: 10.45 mm)			
		Ç5	20.3x17.6 mm (ort.: 18.95 mm)			
D4	10	Ç1	17.6x17.0 mm (ort.: 17.30 mm)	-----		
		Ç2	16.8x14.3 mm (ort.: 15.55 mm)			
		Ç3	22.5x22.4 mm (ort.: 22.45 mm)			
		Ç4	21.7x21.8 mm (ort.:21.75 mm)			
		Ç5	14.5x17.0 mm (ort.: 15.75 mm)			
		Ç6	15.7x14.3 mm (ort.: 15.00 mm)			
D5	12	Ç1	25.9x38.7 mm (ort.: 32.30 mm)	2	Ç1	10.7x10.7 mm (ort.: 10.70 mm)
		Ç2	20.6x15.9 mm (ort.: 18.25 mm)		Ç2	18.0x20.5 mm (ort.: 19.25 mm)
		Ç3	14.4x18.3 mm (ort.: 16.35 mm)			
		Ç4	24.9x22.7 mm (ort.: 23.80 mm)			
		Ç5	13.0x18.2 mm (ort.: 15.60 mm)			
		Ç6	25.9x38.7 mm (ort.: 32.30 mm)			
D6	9	Ç1	16.0x12.4 mm (ort.: 14.20 mm)	2	Ç1	9.0x6.60 mm (ort.: 7.80 mm)
		Ç2	18.8x18.3 mm (ort.: 18.55 mm)		Ç2	12.8x14.9 mm (ort.: 13.85 mm)
		Ç3	12.1x13.3 mm (ort.: 12.70 mm)			
		Ç4	12.4x9.2 mm (ort.: 10.80 mm)			

Çizelge 4.2.2.Devam Deneme Grubuna Ait Korpus Luteum ve Folikül Sayı-Çapları.

D7	17	Ç1	17.7x14.0 mm (ort.: 15.85 mm)	6	Ç1	15.5x15.3 mm (ort.: 15.40 mm)
		Ç2	13.5x15.9 mm (ort.: 14.70 mm)		Ç2	8.7x11.8 mm (ort.: 10.25 mm)
		Ç3	18.1x19.5 mm (ort.: 18.80 mm)		Ç3	16.1x22.1 mm (ort.: 19.10 mm)
		Ç4	13.4x11 mm (ort.:12.20 mm)		Ç4	17.2x8.60 mm (ort.:12.90 mm)
		Ç5	14.0x14.0 mm (ort.: 14.00 mm)			
D8	11	Ç1	15.3X16.2 mm (ort.: 15.75 mm)	-----		
		Ç2	21.5X20.5 mm (ort.: 21.00 mm)			
		Ç3	11.4X12.7 mm (ort.: 12.05 mm)			
		Ç4	11.4X11.5 mm (ort.: 11.45 mm)			
		Ç5	17.5x13.1 mm (ort.: 15.30 mm)			
		Ç6	16.5x19.8 mm (ort.: 18.15 mm)			
D9	19	Ç1	21.3x17.7 mm (ort.: 19.50 mm)	-----		
		Ç2	9.3x12.2 mm (ort.: 10.75 mm)			
		Ç3	20.8x19.8 mm (ort.: 20.30 mm)			
		Ç4	14.9x14.8 mm (ort.: 14.75 mm)			
		Ç5	11.9x10.8 mm (ort.: 11.35 mm)			
D10	19	Ç1	12.8x15.2 mm (ort.: 14 .00 mm)	2	Ç1	14.2x18.6 mm (ort.: 16.40 mm)
		Ç2	19.9x17.1 mm (ort.: 18.50 mm)		Ç2	11.7x12.8 mm (ort.: 12.25 mm)
		Ç3	11.6x14.4 mm (ort.: 13.00 mm)			
TOP-LAM	141			18		

Ç:Korpus luteum ve folikül çaplarını belirtir.

Grupların süperovulasyon yanıtı, her iki ovaryum üzerindeki korpus luteum varlığı ile değerlendirilmiştir (Albuquerque ve ark. 2012, Mikkola ve ark. 2005). Gruplar içinde her bir hayvanda tespit edilen ortalama CL sayı ve büyüklükleri Çizelge 4.2.1. ve Çizelge 4.2.2.'de verilmiştir. Çalışma sonunda grupların süperovulasyon oranları, fertilizasyon oranları ve embriyo toplama oranları Thangavelu ve ark. (2007) ve Childs ve ark. (2008) çalışmaları ile Tur (2014) doktora tez çalışmasından yararlanılarak aşağıda gösterildiği gibi hesaplanmıştır.

Süperovulasyon oranı: CL sayısı 2 ve daha fazla inek / toplam inek sayısı x 100 eşitliğine göre hesaplandı.

Süperovulasyona cevap oranları her iki ovaryum üzerindeki toplam korpus luteum sayısı 2 ve üzeri (Chagas ve ark. 2002) olan donör inek sayısının, toplam donör inek sayısına (n=10) oranlanmasıyla bulundu (Çizelge 4.2.3.). Buna göre; deneme grubunda çalışmaya alınan hayvanların tümü süperovulasyona cevap vermiştir. Kontrol grubunda bulunan hayvanların ise 9 tanesi cevap vermiştir. Gruplar arasında süperovulasyona yanıt oranları z testi (oranların farkına ait hipotez testi) ile karşılaştırıldı. Süperovulasyona yanıt oranları bakımından gruplar arasındaki farkın önemsiz olduğu görüldü ($p>0.05$).

Bununla birlikte, grupların embriyo toplama ve fertilizasyon oranları da değerlendirmeye alındı.

Fertilizasyon oranı: toplam embriyo sayısı / toplam hücre sayısı x 100 eşitliğine göre hesaplandı.

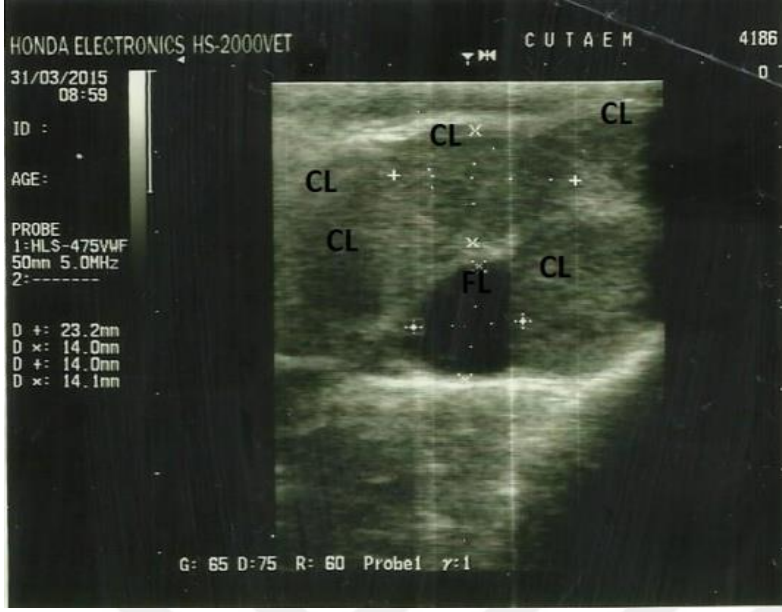
Embriyo toplama oranı: toplanan embriyo + UFO + dejenere oosit / CL x 100 eşitliğine göre hesaplandı.

Grupların fertilizasyon oranları, elde edilen toplam embriyo sayısının toplam hücre sayısına oranlanması, embriyo toplama oranları ise toplanan embriyo ve oosit (UFO + dejenere oosit) sayısının toplam CL sayısına oranlanması ile belirlendi. Buna göre; deneme grubunda fertilizasyon oranı % 47.8, kontrol grubunda % 82.7 olarak, embriyo toplama oranı ise deneme grubunda % 81.56, kontrol grubunda % 92.4 olarak hesaplandı (Çizelge 4.2.3.).

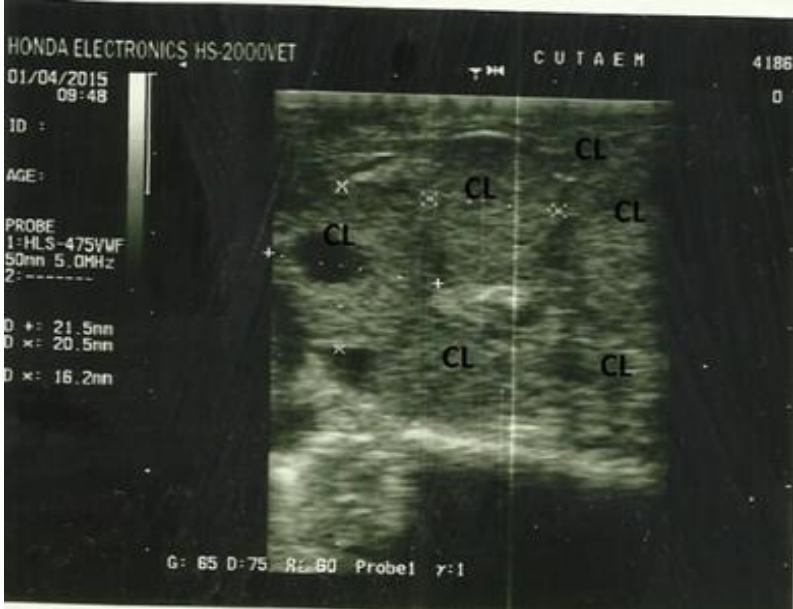
Çizelge 4.2.3. Grupların Süperovulasyona Yanıtı, Fertilizasyon ve Embriyo Toplama Oranları.

	Deneme Grubu	Kontrol Grubu
Toplam İnek Sayısı	10	10
Flushing Yapılan İnek Sayısı	10	9
Süperovulasyona Yanıt (%)	100	90
Fertilizasyon Oranı (%)	47.8	82.7
Embriyo Toplama Oranları (%)	81.56	92.4

Fertilizasyon oranı ve embriyo toplama oranları z testi (oranların farkına ait hipotez testi) ile karşılaştırıldı. Deneme ve kontrol grupları arasında fertilizasyon oranı ve embriyo toplama oranları karşılaştırıldığında istatistiki olarak önemli bir farkın olduğu görüldü ($p<0.05$).



Şekil 4.2.1. Flushing Öncesi Ovaryum Görüntüleri.



Şekil 4.2.2. Flushing Öncesi Ovaryum Görüntüleri.

Uterus yıkama (flushing) günü, gruplardaki donör ineklerin ovaryumları ultrason ile muayene edilerek, tespit edilen ortalama korpus luteum ile anovulatör folikül sayısı ve büyüklükleri Çizelge 4.2.4 ve Çizelge 4.2.5'te görülmektedir.

Gruplar arasında ortalama korpus luteum sayısı ve büyüklükleri (mm) karşılaştırıldığında Çizelge 4.2.4'te belirtildiği üzere; ortalama korpus luteum sayısı deneme grubunda 14.10 ± 2.11 , kontrol grubunda 14.67 ± 3.03 olarak bulundu. Ortalama korpus luteum büyüklükleri ise deneme grubunda 15.79 ± 0.63 (mm), kontrol grubunda 14.78 ± 0.45 (mm) olarak hesaplandı.

Çizelge 4.2.4. Ortalama Korpus Luteum Sayısı ve Büyüklükleri (mm).

Gruplar	CL Sayısı $X \pm S_x$	CL Büyüklüğü (mm) $X \pm S_x$
Deneme	14.10 ± 2.11	15.79 ± 0.63
Kontrol	14.67 ± 3.03	14.78 ± 0.45

Deneme ve kontrol gruplarının korpus luteum sayıları Mann Whitney U testi ve korpus luteum büyüklükleri Student t testi kullanılarak karşılaştırıldı. Gruplar arasında korpus luteum sayısı ve büyüklükleri bakımından istatistiki olarak önemli bir fark olmadığı görüldü ($p > 0.05$).

Gruplar arasında ortalama anovulatör folikül sayısı ve büyüklükleri (mm) karşılaştırıldığında Çizelge 4.2.5'te belirtildiği üzere; ortalama anovulatör folikül sayısı deneme grubunda 3.60 ± 0.98 , kontrol grubunda 2.22 ± 0.43 olarak bulundu. Ortalama anovulatör folikül büyüklükleri ise deneme grubunda 14.87 ± 1.11 (mm), kontrol grubunda 18.81 ± 0.95 (mm) olarak hesaplandı.

Çizelge 4.2.5. Ortalama Anovulatör Folikül Sayısı ve Büyüklükleri (mm).

Gruplar	Anovulatör Folikül Sayısı $X \pm S_x$	Anovulatör Folikül Büyüklüğü (mm) $X \pm S_x$
Deneme	3.60 ± 0.98	14.87 ± 1.11
Kontrol	2.22 ± 0.43	18.81 ± 0.95

Deneme ve kontrol gruplarının anovulatör folikül sayıları Mann Whitney U testi ve anovulatör folikül büyüklükleri Student t testi kullanılarak karşılaştırıldı. Deneme ve kontrol grubu arasında anovulatör folikül sayıları bakımından istatistiki olarak önemli bir fark yoktur ($p>0.05$). Fakat anovulatör folikül büyüklükleri bakımından istatistiki olarak önemli bir fark olduğu görüldü ($p<0.05$).

4.3. Embriyo Kaliteleri

Çalışmada elde edilen embriyolardan 1. kalite, 2. kalite ve 3. kalite olarak sınıflandırılan embriyolar transfer edilebilir embriyo olarak değerlendirilirken, dejenere embriyolar ile UFO ve dejenere oositler transfer edilemez embriyo olarak kabul edildi. Bu duruma göre transfer edilen toplam embriyo sayısı deneme grubunda 37, kontrol grubunda ise 79 olarak belirlendi. Transfer edilemez olarak kabul edilen toplam embriyo sayısı deneme grubunda 78, kontrol grubunda 43 olarak bulundu (Çizelge 4.3.1.).

Çizelge 4.3.1. Gruplara Ait Transfer Edilebilir-Edilemez Embriyo, UFO, Dejenere Oosit, Toplam Embriyo ve Toplam Hücre Sayıları.

Gruplar	Transfer Edilebilir Embriyo	Transfer Edilemez Embriyo	UFO	Dejenere Oosit	Toplam Embriyo	Toplam Hücre Sayıları*
Deneme	37	78	4	56	55	115
Kontrol	79	43	9	12	101	122

*Toplam hücre sayıları; elde edilen oosit ve embriyo sayılarını belirtmektedir.

Deneme ve kontrol grubuna her bir hayvana ait transfer edilebilir, transfer edilemez embriyo, toplam embriyo ve toplam hücre sayıları ayrıntılı olarak Çizelge 4.3.2. ve Çizelge 4.3.3.'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.3.2. Deneme Grubuna Ait Transfer Edilebilir, Transfer Edilemez Embriyo, Toplam Embriyo ve Toplam Hücre Sayıları.

Hayvan No	DENEME GRUBU			
	Transfer Edilebilir Embriyo	Transfer Edilemez Embriyo	Toplam Embriyo	Toplam Hücre Sayıları
D1	0	28	0	28
D2	3	3	4	6
D3	2	1	3	3
D4	5	2	7	7
D5	1	11	2	12
D6	1	4	3	5
D7	4	5	4	9
D8	5	2	5	7
D9	14	5	18	19
D10	2	17	9	19
TOPLAM	37	78	55	115

Çizelge 4.3.3. Kontrol Grubuna Ait Transfer Edilebilir, Transfer Edilemez Embriyo, Toplam Embriyo ve Toplam Hücre Sayıları.

Hayvan No	KONTROL GRUBU			
	Transfer Edilebilir Embriyo	Transfer Edilemez Embriyo	Toplam Embriyo	Toplam Hücre Sayıları
K1	28	4	30	32
K2	8	8	9	16
K3	17	1	18	18
K4	12	12	22	24
K5	1	11	4	12
K6	5	6	10	11
K7	0	1	0	1
K8	2	0	2	2
K9	6	0	6	6
K10	0	0	0	0
TOPLAM	79	43	101	122

Gruplardaki her bir hayvandan elde edilen embriyolar kalitelerine göre sınıflandırılarak, Çizelge 4.3.4 ve Çizelge 4.3.5'te belirtildi. Buna göre deneme grubunda 23 adet 1. kalite, 12 adet 2. kalite, 2 adet 3. kalite ve 18 adet dejenere embriyo elde edilmiştir. Kontrol grubunda 60 adet 1. kalite, 18 adet 2. kalite, 1 adet 3. kalite ve 22 adet

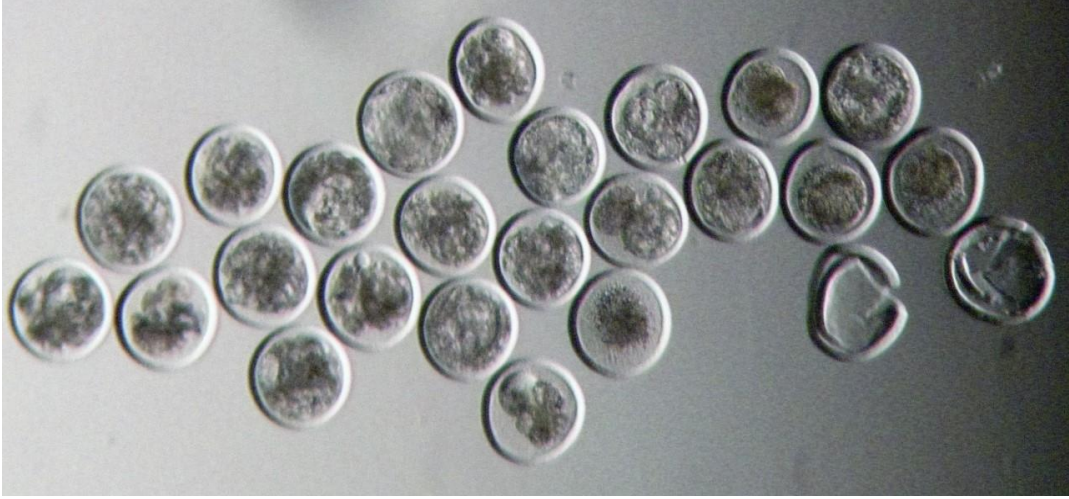
dejenere embriyo belirlendi. UFO (unfertilize oosit) yani fertilize olmamış oosit sayısı deneme grubunda 4, kontrol grubunda 9'dur. Dejenere oosit sayısı ise deneme grubunda 56, kontrol grubunda 12 olarak belirlendi.

Çizelge 4.3.4. Deneme Grubuna Ait Embriyo Kaliteleri, UFO ve Dejenere Oosit Sayıları.

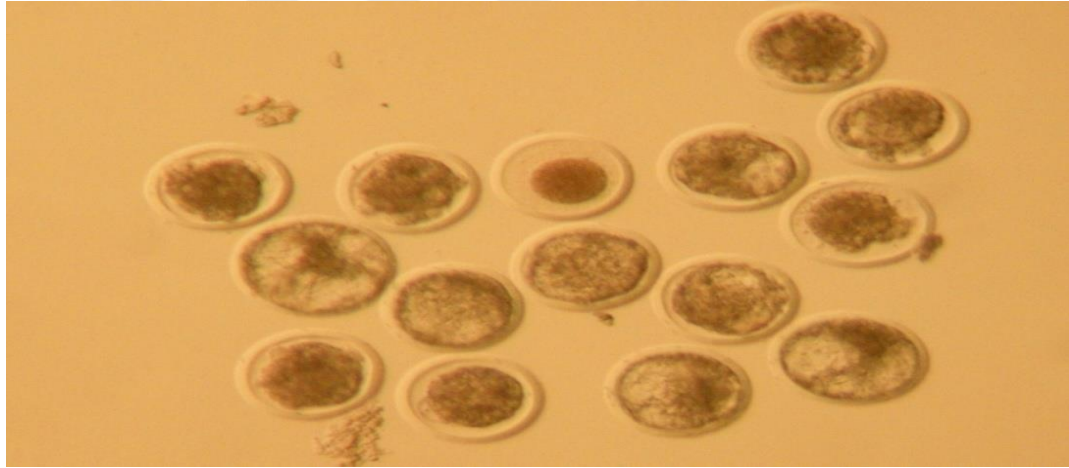
Hayvan No	DENEME GRUBU					
	1.Kalite Embriyo	2.Kalite Embriyo	3.Kalite Embriyo	4.Kalite/Dejenere Embriyo	UFO	Dejenere Oosit
D1	0	0	0	0	0	28
D2	1	1	1	1	0	2
D3	1	1	0	1	0	0
D4	2	3	0	2	0	0
D5	0	0	1	1	0	10
D6	1	0	0	2	0	2
D7	3	1	0	0	4	1
D8	4	1	0	0	0	2
D9	11	3	0	4	0	1
D10	0	2	0	7	0	10
TOPLAM	23	12	2	18	4	56

Çizelge 4.3.5. Kontrol Grubuna Ait Embriyo Kaliteleri, UFO ve Dejenere Oosit Sayıları.

Hayvan No	KONTROL GRUBU					
	1.Kalite Embriyo	2.Kalite Embriyo	3.Kalite Embriyo	4.Kalite/Dejenere Embriyo	UFO	Dejenere Oosit
K1	23	5	0	2	0	2
K2	6	2	0	1	0	7
K3	15	2	0	1	0	0
K4	8	4	0	10	2	0
K5	0	1	0	3	6	2
K6	0	4	1	5	1	0
K7	0	0	0	0	0	1
K8	2	0	0	0	0	0
K9	6	0	0	0	0	0
K10	0	0	0	0	0	0
TOPLAM	60	18	1	22	9	12



Şekil 4.3.1. Flushing Sonrası Elde Edilen Çeşitli Safha ve Kalitedeki Oosit ve Embriyolar.



Şekil 4.3.2. Flushing Sonrası Elde Edilen Çeşitli Safha ve Kalitedeki Oosit ve Embriyolar.

Çalışma grupları 1. ve 2. kaliteli embriyo ve dejenere embriyo sayıları ile dejenere oosit sayıları, ki-kare testi kullanılarak istatistiki olarak karşılaştırıldığında; kontrol grubu ile deneme grubu arasında 1. ve 2. kalite embriyo oranları bakımından istatistiki olarak önemli bir fark yoktur ($p>0.05$). Aynı şekilde dejenere embriyo oranları bakımından da iki grup arasında istatistiki olarak önemli bir fark olmadığı görüldü ($p>0.05$). Fakat dejenere oosit oranları bakımından iki grup arasında istatistiki olarak önemli bir fark bulundu ($p<0.05$). Deneme grubunda dejenere oosit sayısı kontrol grubuna göre daha yüksektir.

Aynı şekilde gruplar arasında transfer edilebilir embriyo ve transfer edilemez embriyo sayıları ki-kare testi ile istatistiki olarak karşılaştırıldı. Buna göre kontrol grubu ile

deneme grubu arasında transfer edilebilir ve transfer edilemez kalitedeki embriyo oranları bakımından istatistiki olarak önemli bir fark olduğu görüldü ($p<0.05$). Kontrol grubunda transfer edilebilen embriyo sayısı deneme grubuna göre oransal olarak daha yüksektir.

Çizelge 4.3.6. Deneme ve Kontrol Grubuna Ait Embriyo Transferi İle İlgili Parametreler.

Parametreler	DENEME	KONTROL
Donör Sayısı	10.0	10.0
Donör Başı Elde Edilen Oosit + Embriyo Sayısı	11.5	12.2
Donör Başı Transfer Edilebilir Embriyo Sayısı	3.7	7.9
Donör Başı Dejenere Embriyo Sayısı	1.8	2.2
Donör Başı Unfertilize Oosit Sayısı	6.0	2.1
Elde Edilen Toplam Hücre Sayısı	115	122
Toplam Flushing Sayısı	10.0	9.0

5. TARTIŞMA

Süt ineği rasyonlarına doymamış yağ asiti kaynağı ilavesinin, reproduktif parametreler üzerine etkisinin araştırıldığı çok sayıda çalışma (Funston 2004, Mattos ve ark. 2000, Staples ve ark. 1998) bulunmasına rağmen bunların embriyo kalitesi üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmalar kısıtlı sayıdadır (Childs ve ark. 2008). Ayrıca donör ineklerde süperovulasyon cevabı, oosit ve erken embriyo gelişimi ve kalitesi ile embriyo transferi sonrası gebe kalma gibi temel konular üzerinde belirli besin maddelerinin rolü ve beslemenin etkileri hakkında çok az bilgi bulunmaktadır (Santos ve ark. 2008).

Bu tez çalışmasında donör ineklerde omega-3 (α -linolenik asit) yönünden zengin keten tohumu ilave edilen rasyonla beslemenin süperovulasyon performansı ve embriyo kalitesi üzerine etkileri araştırıldı. Çalışmada donör ineklerin rasyonuna ilave edilen omega-3 yağ asitlerinin, süperovulasyon performansı, embriyo sayı ve kalitesi ile birlikte korpus luteum sayı ve çapları, folikül sayı ve çapları, kan progesteron seviyeleri ve oosit kalitesi üzerine etkileri incelendi.

Süt ineği rasyonlarına doymamış yağ asiti kaynağı ilavesi ve bunların ineklerin üreme süreçleri üzerindeki etkileri son yıllarda çeşitli araştırmacılar tarafından tartışılmıştır (Abayasekara ve Wathes 1999, Bork ve ark. 2014, Thatcher ve ark. 2004). Süt ineklerini PUFA yönünden zengin rasyonla beslemenin döl verimi üzerine olumlu etkilerini gösteren çalışmalar yanında etkisiz ya da olumsuz etkilerinin olduğunu bildiren çalışmalar da mevcuttur.

5.1. Doymamış Yağ Asiti Kaynağının Süperovulasyon Performansı Üzerine Etkisi

Sunulan tez çalışmasında kullanılan donör ineklerin süperovulasyona yanıtları, uterus yıkama günü sağ ve sol ovaryum üzerinde bulunan korpus luteum varlığı ile değerlendirildi (Albuquerque ve ark. 2012). Donör ineğin süperovulasyona yanıtının oluşabilmesi için her iki ovaryum üzerindeki toplam korpus luteum sayısının 2 ve üzerinde (Chagas ve ark. 2002) olması kabul edildi.

Mevcut tez çalışmasında kullanılan hayvanlardan deneme grubuna ait olan donör ineklerin tamamı süperovulasyona yanıt vermiştir. Ancak kontrol ve deneme gruplarını oluşturan hayvanların süperovulasyon uygulamalarına verdikleri yanıtlar istatistiki olarak karşılaştırıldığında, her iki grup arasında ki farkın önemsiz olduğu görüldü ($p>0.05$). Bu araştırmada, omega-3 doymamış yağ asiti kaynağı yönünden zengin rasyonla beslemenin süperovulasyon yanıtı üzerine etkisi önemsiz bulundu. Çalışmadan elde edilen bu sonuç, bazı araştırmacıların Albuquerque ve ark. (2012), Capovilla ve ark. (2006), Childs ve ark. (2008), Muller ve ark. (2009) ve Salehi ve ark. (2016) sonuçları ile desteklenmektedir.

Albuquerque ve ark. (2012), Nellore sığırlarında keten tohumu (n-3) veya kanola tohumu (n-6) ile beslemenin ve mevsimsel değişimlerin süperovulasyon yanıtı, embriyo verimi ve kalitesi üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, 16 baş ineği, kontrol, keten tohumu ve kanola tohumu ile beslenen grup olmak üzere üç gruba ayırmışlardır. Araştırmaları sonucunda, α -linolenik asit yönünden zengin olan keten tohumu ilaveli rasyonla beslemenin ineklerde süperovulasyon yanıtı üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını belirlemişlerdir.

Childs ve ark. (2008), düve rasyonlarında n-3 çoklu doymamış yağ asiti takviyesinin embriyo verimi ve kalitesi üzerine etkilerini araştırdıkları bir başka çalışmada, 60 baş düve kullanılmış ve 3 grup oluşturulmuştur. Kontrol grubu yanında diğer iki gruba, 151 g/gün doymuş yağ asitlerinden palmitik asit ve 334 g/gün kısmen rumen korumalı, n-3 PUFA ilavesi yapılmıştır. Bu araştırma sonucunda da, n-3 PUFA ilavesi ile beslemenin süperovulasyon yanıtı üzerine etkisi önemsiz bulunmuştur.

Muller ve ark. (2009) da omega-3 ve omega-6 yağ asiti kaynaklarının düvelerde süperovulasyon yanıtı ve embriyo üretimi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada ortalama 20 aylık yaşta 17 baş Nellore ırkı düve kullanılmıştır. Deneme hayvanlarını, yağ kaynağı verilmeyen kontrol grubu (n=6), linolenik asitçe zengin keten tohumu verilen ikinci grup (n=6) ve oleik asitçe zengin kanola tohumu verilen üçüncü grup (n=5) şeklinde gruplara ayırmışlardır. Çalışmaları sonucunda süperovulasyona yanıt bakımından sonuçlar değerlendirildiğinde, gruplar arasında fark bulamamışlardır.

Capovilla ve ark. (2006) da koyun rasyonlarına ilave edilen omega-3 ve omega-6 yağ asiti kaynağının süperovulasyon ve embriyo kaliteleri üzerine etkilerini incelemişlerdir. Toplam 24 baş koyun kullandıkları çalışmalarını üç grup halinde yürütmüşlerdir. Kontrol grubu dışında kalan donör olarak kullanılacak ikinci gruptaki

koyun rasyonlarına α -linolenik asit yönünden zengin keten tohumu üçüncü gruba ise linoleik asit kaynağı (LAC-100) ilavesi yapmışlardır. Çalışmaları sonucunda omega-3 veya omega-6 kaynaklarının süperovulasyon yanıtını iyileştirmediğini bildirmişlerdir.

Salehi ve ark. (2016) α -linolenik, linoleik veya oleik asit yönünden zengin rasyonlar ile beslenen ve laktasyonda bulunmayan Holştayn ırkı ineklerde, süperovulasyon sonrası toplanan embriyoların gelişimi ve transkriptomik profili üzerinde etkisini incelemişlerdir. Buna göre oluşturulan üç gruptan, birincisine (n=8) α -linolenik asitçe zengin keten tohumu, ikincisine (n=7) linoleik asitçe zengin ayçiçeği tohumu ve üçüncüsüne (n=8) oleik asitçe zengin kanola tohumu vermişlerdir. Günlük rasyonların konsantre yem kısmına kuru madde esasına göre 0.99 kg/gün olacak şekilde kanola, ayçiçeği ve keten tohumları ilave etmişlerdir. Minimum 35 günlük besleme döneminden sonra süperovulasyonu sağlamak amacıyla FSH uygulamalarına başlamışlardır. Elde ettikleri bulgulara göre; korpus luteum, anovulatör foliküller ve elde edilen toplam oosit / embriyo sayısına dayanılarak süperovulasyona cevabın gruplar arasında farklı olmadığını bulmuşlardır.

Mevcut çalışmada kontrol ve deneme grubunda bulunan hayvanların, ovaryumlarında tespit edilen CL varlığı da dikkate alındığında, süperovulasyona verdikleri yanıtlar farklı bulundu. Albuquerque ve ark. (2012), embriyo toplamak için uyarılan hayvanlar arasında süperovulasyona yanıtın sabit olmadığını belirtmişlerdir. Nitekim hayvanların süperovulasyona verdikleri yanıtın çok değişken olması embriyo transferinde ki en büyük sorunlardan biridir (Boland ve ark. 2001). Gong ve ark. (1997) göre bu değişkenlik süperovulasyon dönemindeki gonadotropin hormonlarına cevap veren folikül popülasyonu ile ilişkilidir. Ayrıca, bu farklılığın oluşmasında ki en önemli faktör; foliküllerin uyarılması amacıyla FSH uygulamalarına başlama zamanındaki foliküler dalga durumudur (Dinç 2013, Hasler 2004). Bu tez çalışmasında uygulanan metot gereğince, FSH uygulamasına başlama anındaki foliküler dalga takibi yapılmadığından dominant folikül durumu bilinmemektedir. Birçok araştırmacı, süperovulasyon amacıyla FSH enjeksiyonu uygulamalarına, foliküler dalganın başlangıcında başlanması halinde süperovulasyon yanıtının iyi olacağını bildirmişlerdir (Hasler 2004, Mapletoft ve ark. 2002, Merton ve ark. 2003). Bunun nedeni foliküler dalga başlangıcında ovaryum üzerinde henüz dominant bir folikülün oluşmamasıdır. Çünkü bazı araştırmacılar, FSH uygulamasına başlanıldığı sırada ovaryumda dominant bir folikülün varlığının

süperovulasyon cevabını azalttığını bildirmişlerdir (Merton ve ark. 2003). Buna göre çalışma sonucunda, süperovulasyonlara yanıtın her hayvanda farklı olmasının nedeni olarak FSH başlama zamanındaki dominant folikülün varlığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Çünkü yağlar, ovaryumda foliküllerin boyut ve sayısını da etkileyebilmektedir. Bu etkinin daha çok yapılarındaki yağ asitlerinden kaynaklandığı bildirilmektedir (Bilby ve ark. 2006a, Mattos ve ark. 2000).

Mattos ve ark. (2000) tarafından, yağ ilavesinden kaynaklanan foliküllerin sayısındaki artışın dominant folikülün boyutunu da artırdığı belirtilmiştir. Nitekim Ghasemzadeh-Nava ve ark. (2011) tarafından yapılan çalışmalarda omega-6 veya omega-3 yağ asitlerince zengin rasyonlar ile beslenen ineklerde dominant foliküllerin çapının arttığı bildirilmiştir. Bununla birlikte Ambrose ve ark. (2006) α -linolenik asitçe zengin rasyonlar ile beslenen ineklerde ovulatör foliküllerin çaplarının arttığını rapor etmişlerdir.

Ambrose ve ark. (2006) çalışmalarında α -linolenik asit (ALA) bakımından zenginleştirilmiş bir rasyonla beslemenin, laktasyonda bulunan Holştayn ırkı ineklerde ovaryum fonksiyonunu, erken embriyo sağkalım oranını ve gebelik kayıplarını etkileyip etkilemeyeceğini araştırmışlardır. Çalışmalarını 2 grup halinde yürütmüş olup, 62 baş hayvan bulunan keten tohumu (% 56.7 ALA, n = 62) ile 59 baş hayvan bulunan diğer grubu ise ayçiçeği tohumu (% 0.1 ALA, n=59) ilave edilmiş rasyonla beslemişlerdir. Keten tohumu ile beslenen ineklerde ovulatör foliküllerin ortalama çapının ayçiçeği tohumu ile karşılaştırıldığında daha yüksek olduğunu, ancak folikül sayısı ve korpus luteum boyutunun etkilenmemiş olarak kaldığını bildirmişlerdir. Çalışmaları sonucunda süt ineği rasyonlarına keten tohumu ilavesinin ovulatör folikül büyüklüğünü artırdığını, gebelik kayıplarını ise azalttığını rapor etmişlerdir.

Ghasemzadeh-Nava ve ark. (2011) laktasyonda bulunan inek rasyonlarına çoklu doymamış yağ asiti ilavesinin, plazma metabolitleri, yumurtalık fonksiyonu ve prostaglandin salınımı üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Bu amaçla, 20 baş Holştayn ırkı inek kullanılarak 4 grup oluşturulmuştur. Gruplar; 1) kontrol, 2) % 3 balık yağı, 3) % 3 soya yağı ve 4) % 1.5 balık yağı ve % 1.5 soya yağı içeren bir rasyonla 35 gün boyunca beslenmişlerdir. Çalışma sonucunda gruplar arasında folikül sayısı ve korpus luteum boyutu ile plazma östradiol, progesteron ve prostaglandinF2 α seviyelerini benzer bulmuşlardır. Ancak, en büyük folikül büyüklüğünün, balık yağı veya soya yağı içeren rasyonla beslenen ineklerde anlamlı derecede yüksek (p <0.05) olduğunu bildirmişlerdir.

Benzer şekilde Gandra ve ark. (2017) yaptıkları çalışmalarda omega-3 ve omega-6 yönünden zengin rasyonlarla beslenenlerde kontrol grubuna göre daha fazla sayıda büyük folikül tespit etmişlerdir. Söz konusu çalışmada, Holştayn ırkı ineklerin erken laktasyon ve geçiş döneminde omega-3 ve omega-6 yağ asitleri bakımından zengin rasyonlarla beslemenin folikül, oosit ve embriyo kalitesi ile kan metabolitleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Toplam 42 baş süt ineğinin kullanıldığı çalışmada, kontrol, tüm keten tohumu (omega-3 kaynağı), bütün soya fasulyesi (omega-6 kaynağı) ve kalsiyum tuzlarına bağlı doymamış yağ asiti (omega-6) içeren rasyonlarla beslenen 4 grup oluşturulmuştur. Omega-3 ve omega-6 yönünden zengin rasyonlarla beslenenlerde kontrol grubuna göre daha fazla sayıda büyük folikül tespit etmişlerdir. Fakat omega-3 ve omega-6 yönünden zengin rasyonlarla beslenen gruplar arasında folikül ve korpus luteum sayı ve büyüklükleri bakımından fark tespit edilememiştir.

Bilby ve ark. (2006a), yaz mevsiminde laktasyonda bulunan 54 baş inek üzerinde yaptıkları çalışmalarında farklı yağ asiti kaynaklarının folikül gelişimi ve oosit kalitesi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Rasyonlara ilave edilen yağ kaynağı olarak; 1) ayçiçek yağı (% 80 cis 18:1), 2) transoctadenoik asitlerin (% 57 trans 18:1) Ca tuzu, 3) bitkisel yağların Ca tuzu (% 30 18:2) ve 4) ve keten tohumu yağı (% 56 18:3 ve % 16 18:2) kullanılmıştır. Çalışma sonucunda, omega-3 (C18:3) veya omega-6 (C18:2) yönünden zengin rasyonla beslenen ineklerde, tekli doymamış yağ asitleri ile beslenenlere göre tohumlama anında preovulatr folikül ve sonrasında da korpus luteum boyutlarının daha büyük olduğunu belirtmişlerdir.

Sunulan tez çalışmasındaki süperovulasyon performansını değerlendirme aşamasında kullanılan bir diğer bulgu ise korpus luteum sayı ve boyutlarıdır. Çalışma sonucunda deneme grubunda korpus luteum sayı ve büyüklükleri (mm) sırasıyla 14.10 ± 2.11 , 15.79 ± 0.63 ; kontrol grubunda ise 14.67 ± 3.03 , 14.78 ± 0.45 'tir. Deneme ve kontrol grubu arasında korpus luteum sayı ve büyüklükleri bakımından istatistiki olarak önemli bir fark tespit edilmedi ($p > 0.05$). α -linolenik asit yönünden zengin rasyonla beslemenin korpus luteum sayı ve büyüklüğü üzerine etkisi önemsiz bulundu. Mevcut çalışmanın bu bulgusu yukarıda bahsedilen bazı çalışmalar (Albuquerque ve ark. 2012, Gandra ve ark. 2017, Ghasemzadeh-Nava ve ark. 2011, Salehi ve ark. 2016) ile benzerlik göstermektedir.

Mevcut tez çalışmasında belirlenen bir diğer parametre ise anovulatör foliküllerin sayı ve büyüklüğüdür. Gruplar arasında anovulatör folikül sayıları bakımından istatistiki olarak fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Anovulatör folikül sayıları sırasıyla, deneme grubunda 3.60 ± 0.98 , kontrol grubunda 2.22 ± 0.43 'tir. Mevcut çalışmada anovulatör folikül sayıları bakımından fark bulunamaması, Salehi ve ark. (2016)'nın çalışma sonuçları ile desteklenmektedir. Bununla birlikte çalışmada, anovulatör folikül büyüklükleri arasındaki fark, istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Kontrol grubuna ait anovulatör folikül çapı 14.87 ± 1.11 mm iken, deneme grubunda 18.81 ± 0.95 mm olarak kaydedilmiştir.

Sunulan tez çalışmasında, omega-3 doymamış yağ asiti kaynağı yönünden zengin rasyonla beslenen deneme grubu hayvanlarında, süperovulasyon uygulamaları sonrası anovulatör folikül büyüklüklerinin kontrol grubuna göre daha fazla olduğu görülmektedir. Bu sonuç, birçok araştırmacı tarafından da desteklenmektedir. Nitekim birçok çalışmada süt ineği rasyonlarına yağ ilavesinin, preovulatör folikül sayı ve boyutu ile dominant folikülün büyüme oranını artırdığı bildirilmiştir (Beam ve Butler 1997, Lammoglia ve ark. 1997, Mattos ve ark. 2000, Zachut ve ark. 2010). Salfer ve ark. (1995) rasyona yağ ilavesinden kaynaklanan foliküllerin sayısındaki artışın, dominant folikülün boyutunu genel olarak artırdığını, preovulatör folikül boyutunun 25 mm ve üzerinde olması durumunda kist oluşabileceğini ya da ovulasyonun başarısızlıkla sonuçlanabileceğini bildirmişlerdir. Birçok araştırmacıya göre; yağların, ovaryum foliküllerinin boyut ve sayısı üzerine olan etkilerini yapılarında bulunan yağ asitleri sayesinde gerçekleştirdiği belirtilmektedir (Bilby ve ark. 2006a, Mattos ve ark. 2000). Ponter ve ark. (2006) tarafından α -linolenik asit (C18:3 n-3) yönünden zengin yemlerle beslenen ineklerde folikül gelişimin pozitif olarak etkilendiği saptanmıştır.

Sonuç olarak; mevcut çalışmada, donör inek rasyonlarına n-3 PUFA ilavesinin süperovulasyon performansına etkisi değerlendirildiğinde; donör ineklerde doymamış yağ asiti kaynağı yönünden zengin rasyonla beslemenin, folikül sayısını ve dominant folikülün boyutunu artırdığını ve bu artışın FSH uygulamaları başlangıcında olması durumunda ise süperovulasyon performansının olumsuz etkilenebileceği kanısına varılmıştır.

5.2. Doymamış Yağ Asiti Kaynağının Embriyo Kalitesi Üzerine Etkisi

Bu çalışma sonucunda elde edilen embriyo kaliteleri; 1. ve 2. kaliteli embriyolar, dejenere embriyolar, transfer edilebilir embriyolar ve transfer edilemez embriyolar şeklinde karşılaştırıldı. Deneme grubunda 23, kontrol grubunda ise 60 adet 1. kalitede embriyo elde edilmiştir. Deneme grubundaki 1. kalitedeki embriyo sayısı kontrol grubuna göre düşük olmasına rağmen, gruplar arasındaki fark istatistiki olarak önemsiz bulundu ($P>0.05$). Deneme grubunda elde edilen 2. kalite embriyo sayısı 12, dejenere embriyo sayısı 18 iken bu parametreler, kontrol grubunda sırasıyla 18 ve 22 olarak kaydedildi. Aynı şekilde gruplar arasında 2. kalitedeki embriyo ve dejenere embriyo sayıları istatistiki olarak karşılaştırıldığında farkın önemsiz olduğu görüldü ($P>0.05$).

Mevcut çalışmada, deneme ve kontrol grupları arasında 1. ve 2. kalitedeki embriyo sayıları yönünden, istatistiki olarak fark olmaması Albuquerque ve ark. (2012) ve Childs ve ark. (2008)'nin çalışma sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Albuquerque ve ark. (2012) Nellore sığırlarında keten tohumu veya kanola tohumu ile beslemenin embriyo verimi ve kalitesi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışmalarında dondurulabilir kalitede embriyo sayıları (1. ve 2. kalitede embriyo) bakımından gruplar arasında fark tespit etmemişlerdir. Benzer şekilde, Childs ve ark. (2008), düve rasyonlarında n-3 çoklu doymamış yağ asiti takviyesinin embriyo verimi ve kalitesi üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında; rasyona n-3 çoklu doymamış yağ asiti eklenmesinin fertilize olmamış oosit sayısı, elde edilen embriyoların gelişim safhaları ve kaliteleri (1. ve 2. kalite) üzerine etkisinin olmadığını rapor etmişlerdir.

Sunulan çalışma sonuçları, dejenere embriyo sayıları bakımından ise Petit ve ark. (2008)'nin çalışmaları ile uyumlu iken, Albuquerque ve ark. (2012), Childs ve ark. (2008), Muller ve ark. (2009), Salehi ve ark. (2016)'nin çalışma sonuçları farklılık göstermektedir.

Petit ve ark. (2008), benzer laktasyon döneminde bulunan, toplam 30 baş Holştayn ırkı donör inek üzerinde iki grup oluşturarak yaptıkları çalışmalarında; bir grubun donör inek rasyonlarına kuru madde bazında % 7.9 oranında tüm keten tohumu, diğer grubun rasyonuna ise % 2.8 kalsiyum tuzlarına bağlı palm yağı ilave etmişlerdir. Söz konusu çalışmada, yağ kaynağı ilave etmenin, dejenere embriyo sayısını etkilemediğini belirtmişlerdir ($P>0.05$). Fakat, α -linolenik asit yönünden zengin keten tohumu ile beslenen grupta palm yağı ile beslenen gruba göre; 1.ve 2. kalitede embriyo sayılarının ve

fertilizasyon oranının daha düşük, dejenere embriyo sayısının ise daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Muller ve ark. (2009) keten tohumu (omega 3 kaynağı) ve kanola tohumu (omega 6 kaynağı) ile beslenen gruplarda, kontrol grubuna göre daha düşük sayıda dejenere embriyo tespit etmişlerdir.

Salehi ve ark. (2016)'nın yapmış oldukları ve yukarıda ayrıntılı bir şekilde anlatılan çalışma bulgularına göre; ayçiçeği tohumu ile beslenen ineklerde, kanola tohumu ile beslenenlerden daha fazla transfer edilebilir embriyo (toplam 1. ve 2. kalite embriyo sayısı) elde edilmişken, keten tohumu ile beslenenlere göre farklı bulmamışlardır. Ayçiçeği tohumu ile beslenen ineklerde daha az sayıda fertilize olmamış oosit, dolayısıyla kanola ya da keten tohumları ile beslenenlere göre daha yüksek fertilizasyon oranı tespit etmişlerdir. Keten tohumu ile beslenen ineklerde diğer iki gruptaki ineklere göre daha az sayıda dejenere embriyo elde etmişlerdir. Ayrıca keten tohumu ile beslenen ineklerle diğer iki grubun kıyaslaması yapıldığında canlı embriyo oranının (toplam embriyo sayısı içinde 1. ve 2. kalite embriyo oranı) daha fazla olduğunu bulmuşlardır. Sonuç olarak, rasyona n-3 çoklu doymamış yağ asiti ilavesinin, embriyonik hücre canlılığını ve yaşayabilirliğini artırarak, muhtemel erken embriyonik dejenerasyonu azalttığını rapor etmişlerdir.

Albuquerque ve ark. (2012), Nellore sığırlarında keten tohumu ile beslenen grupta, ortalama dejenere embriyo sayısını kontrol grubuna göre istatistiki olarak ($p < 0.10$) daha yüksek bulmuşlardır.

Childs ve ark. (2008), düve rasyonlarında n-3 çoklu doymamış yağ asiti takviyesinin embriyo verimi ve kalitesi üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, n-3 PUFA ile beslenen düvelerde elde edilen dejenere embriyo sayısının kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu belirlemişlerdir. Bununla birlikte, gruplar arasında embriyo toplama oranları arasında ise fark bulamamışlardır.

Yukarıda bahsedilen araştırma sonuçlarından da anlaşılacağı üzere, dejenere embriyo sayıları bakımından literatürde farklı sonuçlar bildirilmiştir. Bu farklı sonuçların nedeni olarak; çalışmalarda kullanılan donör hayvanlara ait fizyolojik özelliklerin (düve ya da inek olması, laktasyon dönemi vb) ve ırkların farklı olması gösterilebilir.

Bu tez çalışmasında, gruplar arasında embriyo toplama yani geriye kazanım oranları da değerlendirilmiştir. Buna göre grupların embriyo kazanımları karşılaştırıldığında gruplar arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).

Embriyo toplama oranı, deneme grubunda (% 81.56), kontrol grubuna (% 92.4) göre daha düşük tespit edilmiştir. Childs ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada, α -linolenik asit yönünden zengin rasyonla beslenen grupta kontrol grubuna göre fertilizasyon oranları ve embriyo toplama oranlarının değişmediğini ($P>0.05$) bildirmişlerdir. Mevcut çalışma sonuçlarının, embriyo toplama oranları bakımından Childs ve ark. (2008) ile benzerlik oluşturmamasının nedeni olarak, donör olarak kullanılan hayvanların düve veya inek olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Yukarıda bahsedilen diğer çalışmalarda ise embriyo toplama oranları değerlendirilmemiştir.

Yukarıda da belirtildiği üzere mevcut çalışmada, gruplar arasındaki dejenere embriyo sayıları ile 1. ve 2. kaliteli embriyo sayıları bakımından fark istatistiki olarak önemsiz iken; transfer edilebilir embriyo ve transfer edilemez embriyo sayıları istatistiki olarak karşılaştırıldığında gruplar arasındaki fark önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Deneme grubunda transfer edilebilir embriyo sayısı 37 iken, kontrol grubunda 79 olarak kaydedilmiştir. Transfer edilemez embriyo sayıları ise deneme grubunda 78, kontrol grubunda 43 olarak belirlenmiştir.

Bu çalışma sonucunda elde edilen toplam hücre sayıları (oosit + embriyo), her iki grupta birbirine yakın sayıda (deneme grubu: 115 ; kontrol grubu: 122) belirlenirken, PUFA kaynağı ile beslenen donör ineklerde transfer edilebilir kalitede embriyo sayısı kontrol grubuna göre daha düşük kaydedilmiştir. Gruplar arasında, kaliteli embriyo sayılarındaki bu farkın, PUFA kaynağı ile beslenen deneme grubu hayvanlarında dejenere oosit sayısının fazla, fertilizasyon oranlarının ise düşük olmasından kaynaklanmış olabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Nitekim gruplar arasında dejenere oosit sayıları ile fertilizasyon oranları karşılaştırıldığında, gruplar arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Deneme grubunda elde edilen dejenere oosit sayısı 56, kontrol grubunda ise 12 olarak belirlenmiştir. Fertilizasyon oranı ise deneme grubunda % 47.8, kontrol grubunda ise % 82.7 olarak kaydedilmiştir.

Mevcut çalışma sonuçları, fertilizasyon oranları bakımından yukarıda ayrıntılı şekilde anlatılan Albuquerque ve ark. (2012), Childs ve ark. (2008) ve Petit ve ark. (2008) çalışmaları ile benzerlik göstermemektedir. Çünkü Albuquerque ve ark. (2012), Childs ve ark. (2008) ve Petit ve ark. (2008) çalışmalarında, rasyonlara n-3 çoklu doymamış yağ asiti ilavesinin unfertilize oosit (döllenenmemiş oosit) sayısını etkilemediğini bildirmişlerdir ($P>0.05$). Mevcut tez çalışmasında unfertilize oosit sayısının fazla yani fertilizasyon

oranlarının düşük olmasının nedeni ise elde edilen toplam hücre sayısı içerisinde dejenere oosit sayısının fazla olmasından kaynaklanmaktadır.

Sunulan tez çalışma sonucunda, donör inek rasyonlarına omega-3 yönünden zengin doymamış yağ asiti ilavesinin oosit ve transfer edilebilir kalitede embriyo sayısı ve kalitesi üzerine olumlu bir etkisi belirlenmemiştir. Mevcut çalışmada elde edilen bu bulgu aşağıda örnekleri verilen araştırma sonuçları ile desteklenirken (Albuquerque ve ark. 2012, Bilby ve ark. 2006a, Capovilla ve ark. 2006, Childs ve ark. 2008, Fouladi-Nashta ve ark. 2009, Gandra ve ark. 2017, Petit ve ark. 2008, Thangavelu ve ark. 2007), Fouladi-Nashta ve ark. (2007), Marei ve ark. (2009), Zachut ve ark. (2010) ile Zeron ve ark. (2002)'nin yaptıkları çalışma sonuçları ile uyumlu bulunmamıştır.

Albuquerque ve ark. (2012), Nellore sığırlarında keten tohumu (n-3) veya kanola tohumu (n-6) ile beslemenin embriyo verimi ve kalitesi üzerine etkisini araştırdıkları çalışma sonucunda, toplam hücre sayısı, dondurulabilir kalitede embriyo sayısı ve fertilize olmamış oosit sayısı bakımından gruplar arasında fark tespit etmemişlerdir.

Bilby ve ark. (2006a) laktasyonda bulunan 54 baş inek üzerinde, yaz mevsiminde yaptıkları çalışmalarında, farklı yağ asiti kaynaklarının folikül gelişimi ve oosit kalitesi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda, tekli ve çoklu doymamış yağ asitlerince zengin rasyon ile beslemenin, ineklerde oosit ve embriyo kalitesi üzerine etkilerinin olmadığını bildirmişlerdir. Ayrıca, çoklu doymamış yağ asitleri ile beslenen grubun, tekli doymamış yağ asitleri ile beslenenlere göre, oosit kalitesi ve devamında embriyo gelişimi üzerine olan etkilerinin daha başarısız olduğunu rapor etmişlerdir.

Childs ve ark. (2008) düve rasyonlarında n-3 çoklu doymamış yağ asiti takviyesinin embriyo verimi ve kalitesi üzerine etkilerini araştırdıkları çalışma sonucunda; rasyona n-3 çoklu doymamış yağ asiti ilavesinin fertilize olmamış oosit sayısı, elde edilen embriyoların gelişim safhaları ve kaliteleri (1. ve 2. kalite) üzerine etkisi olmadığını tespit etmişlerdir.

Fouladi-Nashta ve ark. (2009) laktasyonda bulunan toplam 12 baş Holştayn ırkı inek kullanarak üç grup halinde yürüttüğü çalışmasında, rasyonlara keten tohumu (α -linolenik asitçe zengin), soya fasulyesi (linoleik asitçe zengin) ve rumen korumalı yağ (palmitik asit) ilave ederek, farklı yağ asiti kaynaklarının oosit gelişimi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar, donör inek rasyonlarında omega-3 asitçe zengin keten tohumu kullanımının oosit ve embriyo gelişimine olumlu etkisi olmadığını bildirmişlerdir.

Gandra ve ark. (2017) ise Holştayn ırkı ineklerin erken laktasyon ve geçiş döneminde omega-3 ve omega-6 yağ asitleri bakımından zengin rasyonlarla beslemenin folikül, oosit ve embriyo kalitesi ile kan metabolitleri üzerine etkilerini araştırdıkları çalışma sonucunda; rasyonlara yağ asitleri ilavesinin, oosit ve embriyo kalitesi üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını; fakat omega-6 içeren rasyon ile beslenen grupta tüm keten tohumu ile beslenen gruba göre daha az sayıda transfer edilebilir embriyo elde edildiğini bildirmişlerdir.

Petit ve ark. (2008)'nin yapmış olduğu ve yukarıda ayrıntıları verilen çalışmalarında, rasyonlara yağ kaynağı ilave etmenin, inek başına transfer edilebilir embriyo sayısını ve fertilize olmayan oosit sayısını etkilemediğini belirtmişlerdir ($P>0.05$).

Thangavelu ve ark. (2007)'nin doymamış yağ asitleri ilave edilen rasyonla beslemenin embriyo gelişimi üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında doymamış yağ asiti yönünden zengin keten tohumu (α -linolenik asit) ve ayçiçeği (α -linoleik asit) yağı ilave edilen rasyon ile beslenen her iki grup arasında fertilizasyon oranları, blastomer sayısı, transfer edilebilir embriyo sayısı ve kalitesi bakımından fark bulunamamışlardır. Fakat her iki grupta, doymuş yağ asiti ilave edilen rasyonla beslenen diğer gruba göre blastomer sayısı, dolayısıyla embriyo gelişim oranlarını daha yüksek bulmuşlardır.

Fouladi-Nashta ve ark. (2007) laktasyonda bulunan yüksek verimli süt ineklerinde, kısa süreli besleme sırasındaki rumen korunmuş yağ asitleri düzeyinin oosit kalitesi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Laktasyonun 40-60. günlerinde bulunan 22 baş süt ineğini, 200 g/gün (düşük yağ) veya 800 g/gün (yüksek yağ) rumen korunmuş yağ içeren toplam karışık rasyon (TMR) diyetini alan iki gruba eşit olarak dağıtmışlardır. Hayvanlar robotik besleme sistemi aracılığıyla, bir 14 gün boyunca deneme rasyonları beslendikten sonra OPU yöntemi ile oositleri toplanmıştır. *İn vitro* şartlarda oositlerin olgunlaşma, dölleme ve blastosist evreye kültürlenme aşamalarını incelemişlerdir. Ayrıca, 8. gün blastosistlerinin diferansiyel boyanması ile embriyo kalitesini değerlendirmişlerdir. Elde edilen bulgulara göre; yüksek yağ asit düzeylerinin oosit kalitesi veya bölünme oranı üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığını ancak olgunlaşmış ve bölünmüş oositlerden blastosist üretimini önemli ölçüde geliştirdiğini açıklamışlardır. Bununla birlikte artan rasyon yağının yüksek verimli süt ineklerinde oositlerin gelişimsel potansiyeli üzerindeki yararlı etkilerinin olduğunu bildirmişlerdir.

Capovilla ve ark. (2006) koyun rasyonlarına ilave edilen omega-3 ve omega-6 yağ asiti kaynağının embriyo kaliteleri üzerine etkilerini incelemiş ve araştırma sonucunda keten tohumu ilave edilen rasyonla beslenen koyunlarda daha az ve daha düşük kalitede embriyo elde etmişlerdir. Ancak omega-6 kaynağının embriyonların canlılığını geliştirdiğini bildirmişlerdir.

Marei ve ark. (2009)'nın sığırlarda α -linolenik asit (ALA; 18: 3 n-3) desteğinin oosit maturasyonu (olgunlaşması) ve erken embriyo gelişimi üzerindeki etkisini araştırdıkları *in vitro* çalışmalarında; linolenik asitin, oosit ve embriyo gelişimi üzerine olumlu etkisi olduğunu bildirmişlerdir.

Zeron ve ark. (2002) çalışmalarında, çoklu doymamış yağ asitinin koyunlarda oosit kalitesi üzerine etkilerine bakmışlardır. Bu amaçla koyunları rumen korumalı balık yağ ilave edilmiş rasyonla 13 hafta boyunca besledikten sonra kesime sevk edilen koyun ovaryumları üzerindeki foliküller aspire ederek laboratuvarında değerlendirilmiştir. Çalışmada PUFA ile desteklenmiş koyun ovaryumlarında, kontrol grubuna göre daha fazla folikül ve oosit bulunduğunu belirtmişlerdir. Bunun yanında PUFA ile beslenen koyunlarda kaliteli oosit sayısının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (P <0.05).

Zachut ve ark. (2010) rasyona kapsüllenmiş omega-3 veya omega-6 yağ asiti ilavesinin, ineklerde ovaryumların foliküler durumu, preovulatör folikül özellikleri ve oosit kalitesi üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Bu amaçla 24 baş Holştayn ırkı İsrail ineklerinde yaptıkları çalışmalarında üç grup oluşturmuşlardır. Kontrol grubu (n=7) dışında kalan gruplardan birine % 40.8 keten tohumu yağı içeren (n=8), 1 kg/gün kapsüllenmiş yağ (% 3.8 kuru madde), diğer gruba (n=9) ise % 40.8 ayçiçeği yağı içeren, 1 kg/gün kapsüllenmiş yağ (% 3.8 kuru madde) ilavesi yapılmıştır. Çalışmalarında OPU yöntemiyle folikül aspirasyonu yapılarak *in vitro* oosit olgunlaşması ve fertilizasyonu gerçekleştirilmiştir. Çalışmada elde edilen bulgulara göre; foliküler sıvı ve granuloza hücrelerindeki omega-3 oranlarını, keten tohumu ile beslenen grupta diğer iki gruba göre yaklaşık 5 kat daha yüksek bulmuşlardır. Ayçiçeği ilave edilen grupta, preovulatör foliküllerin foliküler sıvısındaki östradiol konsantrasyonlarının, keten tohumu ilave edilen gruba göre daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Grupların serum progesteron düzeyleri arasında ise fark bulamamışlardır. Keten tohumu ilave edilen rasyonla beslenen grupta kontrol grubuna göre küçük ve büyük folikül sayılarının arttığını belirlemişlerdir. Çalışma

sonucu olarak, omega-3 yağ asitinin oosit kalitesi üzerine olumlu etkileri olduğunu fakat n-3 ile oosit kalitesi arasındaki ilişkiyi aydınlatmak için daha fazla *in vivo* araştırmaya ihtiyaç olduğunu bildirmişlerdir.

Muller ve ark. (2009) omega-3 ve omega-6 yağ asiti kaynaklarının düvelerde embriyo verimi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda elde edilen bulgulara göre; kanola tohumu (omega-6) ile beslenen grupta, keten tohumu (omega-3) ile beslenen gruba ve kontrol grubuna göre daha yüksek sayıda transfer edilebilir embriyo elde etmişlerdir.

Bader ve ark (2005) etçi sığırlarda doğum öncesi lipit ilavesinin, postpartum dönemde uygulanan süperovulasyon sonrasında toplanan embriyoların sayısı ve kalitesi üzerine etkisini belirlemişlerdir. Bu amaçla deneme ve kontrol grubunda toplam 40 baş etçi ırk sığır kullanmışlardır. Rasyonlara lipit kaynağı olarak ise omega-6 yönünden zengin soya ilave edilmiştir. Hayvanlar, doğum öncesi 40 gün boyunca izokalorik ve izonitrojenik olarak hazırlanan rasyonlarla beslemişlerdir. Gruplar arasında yapılan karşılaştırma sonucunda toplam elde edilen embriyo sayıları, transfer edilebilir embriyo sayıları, dejenere embriyo sayıları ve fertilize olmayan oosit sayıları arasında fark bulamamışlardır. Sonuç olarak; doğumdan önce rasyonlarına bütün soya ilave edilen ineklerde, süperovulasyondan sonra toplam transfer edilebilir embriyo ve oosit sayılarında artışta başarısız olduğunu bildirmişlerdir.

Takahashi ve ark. (2013) Japon siyah ineklerin rumen korumalı PUFA ile beslenmelerinin kan biyokimyası, oosit ve embriyo sayıları ile transfer edilebilir embriyo sayıları ve embriyo transferini takiben alıcı olarak kullanılan Holştayn ırkı düvelerde gebelik oranı üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışmalarında kullanılan toplam 100 baş Japon siyah ineklerini deney grubu (n = 50) ve kontrol grubu (n = 50) olmak üzere iki gruba ayırmışlardır. Deneme grubundaki inekleri süperovulasyon uygulamasının sonuna kadar PUFA (% 40 linoleik asit) ile 300 g/gün olacak şekilde beslemişlerdir. Çalışmalarının sonucu olarak, PUFA ile beslenen Japon siyah ineklerinde kontrol grubuna göre, süperovulasyon uygulamaları sonrası oosit ve embriyo sayıları ile transfer edilebilir embriyo sayıları ve gebelik oranlarının önemli derecede arttığını bildirmişlerdir.

Yukarıda bahsedilen doymamış yağ asitinin oosit ve embriyo kalitesi üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışma sonuçlarındaki farklı bulguların; kullanılan donör hayvanın türü ve ırkı, araştırmanın yapıldığı mevsimin durumu ve yöntem farklılığından

kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Nitekim Fouladi-Nashta ve ark. (2007), Marei ve ark. (2009), Zachut ve ark. (2010) ve Zeron ve ark. (2002) çalışmalarını *in vitro* şartlarda gerçekleştirmişlerdir. Yukarıda bahsedilen diğer çalışmalar ile mevcut doktora tez çalışması ise *in vivo* olarak yapılmıştır. Bilby ve ark. (2006a) ise çalışmalarını yaz mevsiminde yürütmüşlerdir. Fouladi-Nashta ve ark. (2007) ile Zeron ve ark. (2002) çalışmalarında donör hayvan olarak koyun kullanmışlardır.

Bu tez çalışması sonucunda elde edilen veriler özetlendiğinde; omega-3 doymamış yağ asiti kaynağı yönünden zengin rasyonla beslenen deneme grubunda, inek başına transfer edilebilir embriyo sayısının kontrol grubuna göre düşük olduğu tespit edilmiştir. Deneme grubunda transfer edilebilir embriyo sayısının az olması, kaliteli oosit sayısının ve fertilizasyon oranlarının düşük olmasına bağlıdır. Yukarıda bahsedilen *in vitro* çalışmalarda linolenik asitin, oosit ve embriyo gelişimi üzerine olumlu etkisi olduğu bildirilmiştir. Ancak *in vivo* çalışmalarda, linolenik asitçe zengin rasyonla beslemenin donör ineklerde oosit ve embriyo gelişimi üzerine olumlu bir etkisi olmadığı tespit edilmiştir. Buna göre n-3 PUFA yönünden zengin rasyonla beslenen ve süperovulasyon uygulanan donör ineklerde ovulasyonların gecikebileceği akla gelmektedir. Mevcut çalışmada, oosit kalitesi ve fertilizasyon oranlarında düşmenin nedeni olarak ise ovulasyonlardaki gecikmeye bağlı olabileceği düşünülmektedir. Bilindiği üzere sığırlarda ovulasyonun gecikmesi döl verimini düşüklüğüne yol açabilmektedir. Ovulasyonun gecikmesine bağlı olarak, döl verimindeki azalma, folikül içerisinde oositin yaşlanması ve buna bağlı olarak fertilizasyonda düşme, embriyonun yavaş gelişimi ve erken embriyonik ölüm şeklinde açıklanabilir (Ptaszynska 2009). Nitekim Bidarimath ve Glover (2015) tarafından da omega-3 yönünden zengin rasyonlarla beslenen ineklerde ovulasyonların geciktiği rapor edilmiştir.

Bidarimath ve Glover (2015) laktasyonun ilk döneminde bulunan 36 baş Holştayn ırkı inek rasyonlarına omega-3 PUFA kaynağı ilave ederek, ovaryum fonksiyonlarını incelemişlerdir. Bu amaçla PUFA kaynağı olarak, bir grupta rumen korumalı balık yağı diğer grupta rumen korumalı deniz yosunu kullanılmıştır. Çalışma sonucunda; ineklere östrus sinkronizasyonu amacıyla uygulanan oosing protokolü döneminde, balık yağı ve deniz yosunu ile beslenen gruplarda kontrol grubuna göre folikül boyutlarının (≥ 10 mm; $P < 0.05$) arttığını; ovulasyonun geciktiğini fakat ovulasyon sayısının değişmediğini

bildirmişlerdir. Ovulasyondaki gecikmeyi LH dalgalanmalarında ki gecikmeden kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir.

Bidarimath ve Glover (2015) rasyonlara ilave edilen uzun zincirli doymamış yağ asitlerinin ovulasyon öncesi LH dalgasını ve östradiol salgısını doğrudan ya da dolaylı olarak etkileyebildiğini bildirmişlerdir. Normal şartlarda östradiol konsantrasyonu bir eşik seviyesine veya pik değerine ulaştığında hipofizin ön lobu GnRH salgılanması için uyarılır. Bu bilgiler doğrultusunda, mevcut tez çalışmasında, ovulasyon gecikmelerinin LH dalgalanmasında ki gecikmeye bağlı olabileceği ve bu gecikmenin de östradiol salınımındaki yetersizlikten kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Nitekim yapılan başka çalışmalarda da, süt ineği rasyonlarına doymamış yağ asiti kaynağı ilavesinin plazma östrodiol düzeylerinde azalmaya yol açtığı rapor edilmiştir (Oldick ve ark. 1997, Santos ve ark. 2008, Staples ve ark. 1998).

Sonuç olarak; bu çalışmada, donör inek rasyonlarına n-3 PUFA ilavesinin oosit ve embriyo sayı ve kalitesi üzerine etkisi değerlendirildiğinde; doymamış yağ asiti kaynağı yönünden zengin rasyonla beslenen donör ineklerde, kaliteli oosit ve transfer edilebilir embriyo sayısında azalma tespit edilmiştir. Bu durumun nedeni ise; süperovulasyon uygulanan donör ineklerde linolenik asitin foliküllerin granuloza hücrelerini etkileyerek plazma östrodiol düzeylerinde düşmeye neden olabileceği, sonrasında ise yetersiz LH dalgalanmaları sonucu ovulasyonda ki gecikmelerden kaynaklanabileceği kanısına varılmıştır.

Yukarıda bahsedilen araştırmacıların yapmış oldukları çalışmalar ve raporlardan anlaşılacağı üzere, donör olarak kullanılan süt ineği beslemesinde rasyona ilave edilen doymamış yağ asiti kaynağının süperovulasyon performansı, embriyo sayı ve kalitesi üzerine etkileri hakkında bilgiler kesin ve net değildir. Bu konuda daha fazla *in vivo* çalışmaların yapılmasına ihtiyaç olduğu anlaşılmaktadır.

5.3. Doymamış Yağ Asiti Kaynağının Plazma Progesteron Düzeyleri Üzerine Etkisi

Sunulan tez çalışmasında donör ineklerin plazma progesteron düzeyleri de analiz edilmiştir. Süperovulasyon uygulamaları esnasında ve flushing günü alınan kan

örneklerinden serum progesteron düzeylerine bakıldığında; gruplar arasındaki fark istatistikî olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$).

Birçok literatürde linolenik asitçe zengin rasyonla beslenen ineklerde progesteron sentezinin artacağı rapor edilmiştir (Jones ve ark. 2008, Lammoglia ve ark. 1997, Şirin ve Kuran 2004). Bununla birlikte bazı araştırmacılar tarafından süt ineklerinde tohumlama öncesi plazma progesteron düzeylerinin yüksek olmasının gebe kalma oranları üzerine olumlu etkisinin olduğunu belirtilmiştir (Folman ve ark. 1973, Fonseca ve ark. 1983, Wiltbank ve ark. 2014). Ayrıca Rivera ve ark. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada, süperovulasyon uygulaması boyunca yüksek plazma progesteron düzeylerinin süperovulasyon sonrası 7. günde toplanan embriyo kalitesini artırdığı bildirilmiştir.

Ambrose ve ark. (2006) çalışmalarında, α -linolenik asit bakımından zenginleştirilmiş bir rasyonla beslemenin, laktasyonda bulunan Holştayn ırkı ineklerde ovaryum fonksiyonunu, erken embriyo sağkalım oranını ve gebelik kayıplarını etkileyip etkilemeyeceğini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda gruplar arasında plazma progesteron konsantrasyonlarının etkilenmemiş olarak kaldığını bildirmişlerdir.

Petit ve Twagiramungu (2006) süt sığırı rasyonlarına farklı yağ kaynağı ilavelerinin progesteron konsantrasyonu, folikül gelişimi, gebelik oranı, embriyo mortalitesi ve prostaglandinF2 α metabolitinin plazma konsantrasyonları üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Çalışmalarında her grupta 46 baş Holştayn ırkı inek olacak şekilde üç grup oluşturmuşlardır. Grupta bulunan ineklerin rasyonlarına, bütün keten tohumu, palm yağı (Megalac®) veya mikronize soya ilavesi yapılarak izonitrojen, izoenerjetik ve isolipidik olarak hazırlamışlardır. Çalışmaları sonucu elde edilen bulgulara göre; gruplar arasında birinci ve ikinci tohumlamadaki gebelik oranlarının benzer olduğunu, folikül sayısı ve dominant folikül büyüklüğü bakımından fark olmadığını bildirmişlerdir. Laktasyonun 9. haftasından itibaren tam bir östrüs siklusu sırasında ölçülen korpus luteum büyüklüğünü, soya (16.3 mm) ile beslenen ineklerde, keten tohumu (19.1 mm) veya palm yağı (18.3 mm) ile beslenenlere kıyasla daha küçük belirlemişlerdir. Plazma progesteron konsantrasyonlarının verileri, östrüs döngüsünün 17. gününden 21. gününe kadar analiz edildiğinde, keten tohumu ile beslenen ineklerde, soya fasulyesi ve palm yağı ile beslenenlerden daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Toplam embriyo mortalitesini ise keten tohumu ile beslenen ineklerde, soya ve palm yağı ile beslenen ineklere göre düşük bulmuşlardır.

Bilby ve ark. (2006b) laktasyonda bulunan ineklerde, sığır somatotropin (bST) hormonu ve rasyon yağ asitlerinin üreme yanıtları üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Çalışmalarını iki grup halinde 40 baş inek ile yürütmüşlerdir. İzokalorik hazırladıkları rasyonlarda yağ asiti kaynağı olarak, tüm pamuk tohumu ve kalsiyum tuzlarına bağlı balık yağı kullanmışlardır. İneklere suni tohumlama amacıyla ovsynch (oosing) protokolü uygulamışlardır. Çalışmaları sonunda doymamış yağ asiti kaynağı olarak balık yağı ilave edilen rasyonla beslenen ineklerde plazma progesteron düzeylerinin sinkronizasyon öncesi ve sonrasında değişmediğini rapor etmişlerdir.

Moriel ve ark. (2014) kalsiyum tuzlarına bağlı PUFA'nın progesteron ve insülinin serum konsantrasyonları üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla yaptıkları çalışmada, laktasyonda bulunmayan 45 baş gebe sığır (18 baş düve ve 27 baş inek) kullanmışlardır. Bu amaçla, hayvanları üç gruba ayırmışlardır. Bunun için birinci gruba kalsiyum tuzlarına bağlı doymuş yağ asitleri, ikinci gruba kalsiyum tuzlarına bağlı çoklu doymamış yağ asiti verilmiştir. Kontrol grubunu oluşturan üçüncü grup rasyonlarına ise herhangi bir yağ ilavesi yapılmamıştır. Yaptıkları bu çalışma sonucunda rasyonlarına yağ asiti ilavesi yapılan gruplar ile kontrol grubu arasında serum progesteron düzeyleri arasında fark bulamamışlardır. Bununla birlikte düverdeki serum progesteron düzeyini ineklere göre daha yüksek tespit etmişlerdir. Çalışmalarında gebe sığırların serum progesteron düzeylerini artırmak için rasyona ilave edilen PUFA kalsiyum tuz (0.22 kg) miktarının yetersiz olduğunu belirtmişlerdir.

Ghasemzadeh-Nava ve ark. (2011) laktasyonda bulunan inek rasyonlarına çoklu doymamış yağ asiti ilavesinin, plazma metabolitleri, yumurtalık fonksiyonu ve prostaglandin salınımı üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Çalışma sonucunda gruplar arasında plazma östradiol, progesteron ve prostaglandinF2 α seviyelerini benzer bulmuşlardır.

Sunulan çalışma, serum progesteron düzeyleri bakımından Ambrose ve ark. (2006), Bilby ve ark. (2006b), Ghasemzadeh-Nava ve ark. (2011) ve Moriel ve ark (2014)'nın çalışma sonuçları ile benzerlik gösterirken, yukarıda bahsedilen literatür sonuçları ile benzerlik oluşturmamaktadır. Bunun nedeni olarak ise; bu çalışmada kullanılan n-3 PUFA kaynağının rumen mikroorganizmaları tarafından biyohidrojenizasyona uğratılarak stearik asite yani doymuş hale dönüştürülmüş olabileceği şeklinde (Staples ve ark. 1998) yorumlanabilir.

6. SONUÇ

Mevcut tez çalışmasında, donör inek rasyonlarına doymamış yağ asiti kaynağı ilave edilerek, süperovulasyon uygulaması sonucunda ovaryumda birden fazla folikülün gelişmesi, bu foliküllerin ovulasyonu ve oositin fertilizasyonunun şekillenmesi sonucu kaliteli embriyoların elde edilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca omega-3 yağ asitinin plazma progesteron düzeylerini artırması ve artan progesteronun oosit ve embriyo kalitesini iyileştirmesi beklenmekteydi. Ancak, sunulan tez çalışma sonucunda doymamış yağ asiti kaynağı olarak keten tohumu ilave edilen rasyonla beslenen donör ineklerde oosit kalitesinde ve transfer edilebilir embriyo sayısında azalma tespit edilmiştir. Bununla birlikte serum progesteron düzeylerinde de artma kaydedilmemiştir.

Sonuç olarak; donör ineklerde omega-3 doymamış yağ asiti yönünden zengin rasyonla beslemenin, süperovulasyon protokolleri esnasında FSH enjeksiyonlarına başlama anındaki dominant folikülün boyutunu artırabileceğinden dolayı süperovulasyona alınan cevabın düşebileceği, bununla birlikte süperovulasyon sonrası da preovulatör foliküllerde ovulasyon gecikmelerinin olabileceği ve buna bağlı olarak oosit kalitesinin ve embriyo gelişiminin olumsuz yönde etkilenebileceği kanısına varılmıştır. Bu elde edilen bulgular doğrultusunda, PUFA yönünden zengin rasyonlarla beslenen donör ineklerde FSH uygulamalarına başlamadan önce ultrasonografi yöntemiyle ovaryumların muayenesinin yapılması ve folikül durumları uygun olan ineklerde süperovulasyon uygulamalarına başlanması önerilebilir.

Donör ineklerde doymamış yağ asitinin oosit ve embriyo kalitesi üzerine etkilerinin incelendiği *in vitro* araştırmalarda, linolenik asitin oosit gelişimi ve blastosist oluşumu üzerine olumlu etkileri saptanmıştır. Bu bakımdan ineklerde *in vitro* embriyo üretimi esnasında oositlerin maturasyon vasatına linolenik asit ilavesi blastosist elde etme oranı üzerine olumlu etkiye sahip olabileceği söylenebilir. Ancak, donör ineklerde doymamış yağ asitinin oosit ve embriyo kalitesi üzerine etkilerinin anlaşılabilmesi için daha fazla *in vivo* çalışmalara ihtiyaç vardır. Ayrıca, daha kesin yargıya varmak için çalışmalarda kullanılan hayvan sayısında artırılması gerekir. Bununla birlikte tavsiye edilen bu *in vivo* çalışmalarda farklı yağ asit kaynakları ve miktarları kullanılabilir.

7. KAYNAKLAR

1. **Abayasekara DRE, Wathes DC.** Effects of Altering Dietary Fatty Acid Composition on Prostaglandin Synthesis and Fertility. *Prostaglandins, Leukotriens and Essential Fatty Acids*, **1999**, 61(5): 275-287.
2. **Akyol N.** Sığır Embriyo Transferinde Hormon Kullanımı. *Lalahan Hay Araş Derg*, **2001**, 44(1): 95-104.
3. **Akyol N, Kızıl SH, Tuncer PB.** İneklerde Süperovulasyon ve Embryo Transferi Çalışmaları. *Lalahan Hay Araş Derg*, **2004**, 44(1): 1-5.
4. **Alaçam E.** *Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite. İnekte İnfertilite Sorunu. 7. Baskı, Medisan Yayınları, Ankara, 2010, s. 267-290.*
5. **Albuquerque KP, do Prado IN, do Prado RM, Cavallieri FLB, Rigolon LP ve ark.** Superovulatory Response, Production and Quality of Embryos of Cows Fed on Linseed or Canola Seed Supplemented Diets. *Acta Sci., Anim. Sci.*, **2012**, 34(3): 321-327.
6. **Anonim.** Anadolu Alacası Geliştirme Projesi. DPT, Proje No:2001A030010, Ankara, 2001.
7. **AOAC.** Official Methods of Analysis. 16th ed.. 4th revision. Association of Official Analytical Chemists. Washington. DC. USA. 1998.
8. **Ata A.** Sütçü Sığırlarda Döl Verimi Ölçütlerinin Güncel Yorumu. *MAKÜ Sağ. Bil. Enst. Derg.*, **2013**, 1(1): 30-41.
9. **Ayaşan T, Karakozak E.** Korunmuş Yağların Hayvan Beslemede Kullanımı. *Atatürk Univ. Vet. Fak. Derg.*, **2011**, 6(1): 85-94.
10. **Ambrose DJ, Kastelic JP, Corbett R, Pitney PA, Petit HV ve ark.** Lower Pregnancy Losses in Lactating Dairy Cows Fed a Diet Enriched in Linoleic Acid. *J. Dairy Sci.*, **2006**, 89: 3066-3074.
11. **Bader JF, Kojima FN, Wehrman ME, Lindsey BR, Kerley MS ve ark.** Effects of Prepartum Lipid Supplementation on FSH Superstimulation and Transferable Embryo Recovery in Multiparous Beef Cows. *Animal Reproduction Science*, **2005**, 85: 61-70.
12. **Beam SW, Butler WR.** Energy Balance and Ovarian Follicle Development Prior to First Ovulation Postpartum in Dairy Cows Receiving Three Levels of Dietary Fat. *Biol Reprod.*, **1997**, 56(1): 133-142.
13. **Beam SW, Butler WR.** Effects of Energy Balance on Follicular Development and First Ovulation in Postpartum Dairy Cows. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, **1999**, 54: 411-24.
14. **Bekyürek T.** Süt Sığırlarında Besleme, Üreme ve Meme Sağlığı. Panel Kitabı. Niğde, **2010**, s. 94-105.
15. **Bidarimath M, Glover K.** Effect of Omega-3 Fatty Acids on the Ovaries of Lactating Dairy Cows. Erişim: <https://www.researchgate.net/publication/284673150>. **2015**. Erişim tarihi: 20.12.2016.
16. **Bilby TR, Block J, Amaral DBC, Filho SO, Silvestre FT ve ark.** Effects of Dietary Unsaturated Fatty Acids on Oocyte Quality and Follicular Development in Lactating Dairy Cows in Summer. *J. Dairy Sci.*, **2006a**, 89(10): 3891-3903.
17. **Bilby TR, Sozzi A, Lopez MM, Silvestre FT, Ealy AD ve ark.** Pregnancy, Bovine Somatotropin, and Dietary n-3 Fatty Acids in Lactating Dairy Cows: I. Ovarian, Conceptus, and Growth Hormone Insulin-Like Growth Factor System Responses. *J. Dairy Sci.*, **2006b**, 89: 3360-3374.

18. **Boland R, Lonergan P, O'Callaghan D.** Effect of Nutrition on Endocrine Parameters, Ovarian Physiology, Oocyte and Embryo Development. *Theriogenology*, **2001**, 55: 1323-1340.
19. **Boland MP, Lonergan P.** Effects of Nutrition on Fertility in Dairy Cows. *Advances in Dairy Technology*, **2003**, 15: 19-33.
20. **Bork NR, Schroeder JW, Lardy GP, Vonnahme KA, Bauer ML ve ark.** Effect of Feeding Rolled Flaxseed on Milk Fatty Acid Profiles and Reproductive Performance of Dairy Cows. *J. Anim. Sci.*, **2010**, 88(11): 3739-3748.
21. **Bó GA, Baruselli PS, Moreno D, Cutaia L, Caccia M ve ark.** The Control of Follicular Wave Development for Selfappointed Embryo Transfer Programs in Cattle. *Theriogenolog*, **2002**, 57(1): 53-72.
22. **Burke JM, Staples CR, Risco CA, de la Sota RL, Thatcher WW.** Effects of Ruminant Grade Menhaden Fish Meal on Reprodüktive and Prodüktive Performance of Lactating Dairy Cows. *J.Dairy Sci.*, **1997**, 80: 3386-3398.
23. **Butler WR, Smith RD.** Interrelationships Between Energy Balance and Postpartum Reproductive Function in Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.*, **1989**, 72(3): 767-783.
24. **Butler WR.** Effect of Protein Nutrition on Ovarian and Uterine Physiology in Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.*, **1998**, 81(9): 2533-2539.
25. **Butler WR.** Nutritional İnteractions with Reproductive Performance in Dairy Cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, **2000**, 60: 449-457.
26. **Butler ST, Marr AL, Pelton SH, Radcliff RP, Lucy MC ve ark.** Insulin Restores GH Responsiveness During Lactation-İnduced Negative Energy Balance in Dairy Cattle: Effects on Expression of IGF-I and GH Receptor 1A. *J. Endocrinol*, **2003**, 176(2): 205-217.
27. **Butler WR.** Energy Balance Relationships with Follicular Development, Ovulation and Fertility in Postpartum Dairy Cows. *Livest Prod. Sci.*, **2003**, 83(2-3): 211-218.
28. **Bülbül B, Dursun Ş.** İneklerde Süperovulasyon Cevabına Etki Eden Faktörler. *Hayvancılık Araştırma Dergisi*, **2005**, 15(1): 16-25.
29. **Capovilla LCT, Rigolan LP, Cavalheri FLB, Macedo FAF, Albuquerque KP ve ark.** Superovulation and Embryos Viability of Santa Ines Ewes Fed With Essential Fatty Acids. *Academical Journal*, **2006**, 4(1): 65-73.
30. **Cerri RL, Juchem SO, Chebel RC, Rutigliano HM, Bruno RG ve ark.** Effect of Fat Source Differing in Fatty Acid Profile on Metabolic Parameters, Fertilization, and Embryo Quality in High-Producing Dairy Cows. *J. Dairy Sci.*, **2009**, 92(4): 1520-1531.
31. **Chagas LM, Bass JJ, Blache D, Burke CR, Kay K ve ark.** Invited Review: New Perspectives on the Roles of Nutrition and Metabolic Priorities in the Subfertility of High-Producing Dairy Cows. *J. Dairy Sci.*, **2007**, 90(9): 4022-4032.
32. **Chagas e SJ, Lopes da CL, Robalo SJ.** Embryo Yield and Plasma Progesterone Profiles in Superovulated Dairy Cows and Heifers. *Anim. Reprod. Sci.*, **2002**, 23(69): 1-8.
33. **Chassagne M, Bornouin J.** Circulating PGF2 α and Nutritional Parameters at Parturition in Dairy Cows with and Without Retained Placenta: Relation to Prepartum Diet. *Theriogenology*, **1992**, 38(3): 407-418.
34. **Chebel RC, Demetrio DGB, Metzger J.** Factors Affecting Success of Embryo Collection and Transfer in Large Dairy Herds. *Theriogenology*, **2008**, 69: 98-106.

35. **Childs S, Carter F, Lynch CO, Sreenan JM, Lonergan P ve ark.** Embryo Yield and Quality Following Dietary Supplementation of Beef Heifers with n-3 Polyunsaturated Fatty Acids (PUFA). *Theriogenology*, **2008**, 70(6): 992-1003.
36. **Colazo MG, Hayirli A, Doepel L, Ambrose DJ.** Reproductive Performance of Dairy Cows is Influenced by Prepartum Feed Restriction and Dietary Fatty Acid Source. *J. Dairy Sci.*, **2009**, 92(6): 2562-2571.
37. **De Vries MJ, Veerkamp RF.** Energy Balance of Dairy Cattle in Relation to Milk Production Variables and Fertility. *J. Dairy Sci.*, **2000**, 83(1): 62-69.
38. **Dinç DA.** İneklerde Foliküler Gelişim. Erişim: <http://www.spermed.com.tr/wp-content/uploads/%C4%B0neklerde-Folik%C3%BCler-Geli%C5%9Fim.pdf>. **2013**. Erişim tarihi: 20.10.2016.
39. **Dirandeh E, Towhidi A, Zeinoaldini S, Ganjkanlou M, Ansari Pirsaraei Z ve ark.** Effects of Different Polyunsaturated Fatty Acid Supplementations During the Postpartum Periods of Early Lactating Dairy Cows on Milk Yield, Metabolic Responses, and Reproductive Performances. *J. Anim. Sci.*, **2013**, 91(2): 713-721.
40. **Diskin MG, Murphy JJ, Sreenan JM.** Embryo Survival in Dairy Cows Managed Under Pastoral Conditions. *Anim. Reprod. Sci.*, **2006**, 96(3-4): 297-311.
41. **Dunne LD, Diskin MG, Boland MP, O'Farrell K, Sreenan JM.** The Effect of Pre- and Post-Insemination Plane of Nutrition on Early Embryo Survival in Cattle. *Proceedings of the British Society of Animal Science*, **1997**, s. 35.
42. **Elis S, Freret S, Desmarchais A, Maillard V, Cognie J, ve ark.** Effect Of A Long Chain N-3 PUFA-Enriched Diet on Production and Reproduction Variables in Holstein Dairy Cows. *Animal Reproduction Science*, **2016**, 164: 121-132.
43. **Ergün Y, Erdoğan Z.** Süt Sığırlarında Beslemenin Fertilité Üzerine Etkisi- I: Enerji, Protein ve Fertilité İlişkisi. *Bültendif Vet.Derg.*, Ekim **2001a**, s. 9-12.
44. **Ergün Y, Erdoğan Z.** Süt Sığırlarında Beslenmenin Fertilité Üzerine Etkisi II: Vitamin, Mineral ve Fertilité İlişkisi, *Bültendif Vet.Derg.*, Ekim **2001b**, s. 13-17.
45. **Erikson PS, Murpy MR, Clark JH.** Supplementantation of Dairy Cow Diets with Calcium Salts of Long-Chain Fatty Acids and Nicotinic in Early Lactation. *J.Dairy Sci.*, **1992**, 75(4): 1078-1089.
46. **Funston RN.** Fat Supplementation and Reproduction in Beef Females. *J. Anim Sci.*, **2004**, 82: 154-161.
47. **Folman Y, Rosenberg M, Herz Z, Davison M.** The Relationship Between Plasma Progesterone Concentration and Conception in Post-Partum Dairy Cows Maintained on Two Levels of Nutrition. *J. Reprod. Fert.*, **1973**, 34(2): 267- 278.
48. **Fonseca FA, Britt JH, Mcdaniel BT, Wilk JC, Rakes AH.** Reproductive Traits of Holsteins and Jerseys – Effects of Age, Milk Yield, and Clinical Abnormalities on Invalidation of Cervix and Uterus, Ovulation, Estrous Cycles, Detection of Estrus, Conception Rate, and Days Open (Abstr.). Erişim: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6683729>. **1983**. Erişim tarihi: 15.11.2015.
49. **Fouladi-Nashta AA, Gutierrez CG, Gong JG, Garnsworthy P, Webb R.** Impact of Dietary Fatty Acids on Oocyte Quality and Development in Lactating Dairy Cows. *Biology of Reproduction*, **2007**, 77(1): 9-17.
50. **Fouladi-Nashta AA, Wonnacott KE, Gutierrez CG, Gong JG, Sinclair KD ve ark.** Oocyte Quality in Lactating Dairy Cows Fed on High Levels of n-3 and n-6 Fatty Acids. *Reproduction*, **2009**, 138: 771-781.

51. **Gali C, Duchi R, Crotti G, Turini P, Ponderato N ve ark.** Bovine Embryo Technologies. *Theriogenology*, **2003**, 59: 599- 616.
52. **Gandra JR, Verdurico LC, Mingoti RD, Takiya CS, Gardinal R ve ark.** Whole Flaxseed, Raw Soybeans, and Calcium Salts of Fatty Acids Supplementation for Transition Cows: Follicle Development and Embryo Quality. *Italian Journal of Animal Science*, **2017**, DOI: 10.1080/1828051X.2017.1302823.
53. **Ghasemzadeh-Nava H, Fatahnia F, Nikkhah A, Zamiri MJ.** Effects of Dietary Polyunsaturated Fatty Acids on Ovarian Function and Prostaglandin Secretion in Lactating Dairy Cows. *International Journal of Veterinary Research*, **2011**, 5 (2): 129-135.
54. **Gong JG, Baxter G, Bramley TA, Webb R.** Enhancement of Ovarian Follicle Development in Heifers by Treatment with Recombinant Bovine Somatotrophin: a Dose-Response Study. *Journal of Reproduction and Fertility*, **1997**, 110: 91-97.
55. **Gong JG, Lee WJ, Garnsworthy PC, Webb R.** Effect of Dietary Induced Increases in Circulating Insulin Concentrations During the Early Postpartum Period on Reproductive Function in Dairy Cows. *Reproduction*, **2002**, 123(3): 419-427.
56. **Gordon IR.** Reproductive technologies in farm animals. Erişim: <https://books.google.com.tr/books?hl=tr&lr=&id=rItfbxpris0C&oi=fnd&pg=PP14&dq=Reproductive+tehnologies+in+farm+animals&ots>. **2005**. Erişim tarihi: 07.10.2016.
57. **Görgülü M, Göncü S, Serbester U, Kıyma Z.** Süt Sığırlarının Üremesinde Beslemenin Rolü. 7. Ulusal Zootečni Bilim Kongresi. Adana, Türkiye, 14-16 Eylül 2011, s. 9-39.
58. **Grummer RR, Carroll DJ.** Effects of Dietaryfat on Metabolic Disorders and Reproductive-Performance of Dairy Cattle. *J. Anim. Sci.*, **1991**, 69(9): 3838-3852.
59. **Hansen PJ, Arechiga CF.** Strategies for Managing Reproduction in the Heat-Stressed Dairy Cow. *J. Anim. Sci.*, **1999**, 77: 36-50.
60. **Hasler JF.** Factors İnfluencing the Success of Embryo Transfer in Cattle. Erişim: https://www.researchgate.net/profile/John_Hasler/publication/228484750. **2004**. Erişim tarihi: 25.11.2014.
61. **Hasler JF.** The Holstein Cow in Embryo Transfer Today as Compared to 20 Years Ago. *Theriogenology*, **2006**, 65(1): 4-16.
62. **Hasler JF.** Bovine Embryo Transfer: are Efficiencies Improving? Erişim: http://appliedreprostrategies.com/pdfs/2012ARSBC_25HaslerProceedings.pdf **2012**. Erişim tarihi: 15.10.2014.
63. **Hayırlı A, Çolak A.** İneklerin Kuru ve Geçiş Dönemlerinde Sevk-İdare ve Besleme Stratejileri: Postpartum Süreçte Metabolik Profil, Sağlık Durumu ve Fertiliteye Etkisi. *Türkiye Klinikleri J. Vet. Sci.*, **2011**, 2(1): 1-35.
64. **Heravi Moussavi AR, Gilbert RO, Overton TR, Bauman DE, Butler WR.** Effects of Feeding Fish Meal and n-3 Fatty Acids on Ovarian and Uterine Responses in Early Lactating Dairy Cows. *J. Dairy sci.*, **2007**, 90(1): 145-154.
65. **Hızlı H, Ayaşan T, Kılıçalp N, Kara U, Karakozak E ve ark.** Verici İnek ve Düvelerde Tekrarlı Ovulasyonların Embriyo Kalitesi Üzerine Etkisi. *YYÜ Vet Fak Derg*, **2012**, 23(1): 11-14.
66. **Hiçcan Ö, Yıldız G.** Sütçü İneklerde Enerji Dengesinin Üreme Üzerine Etkileri. Erişim : <http://www.tarimdanhaber.com/haber/hayvancilik/sutcu-ineklerde-enerji-dengesinin-ureme-uzerine-etkileri>. **2016**. Erişim tarihi:28.12.2016.

67. **Hutchinson L.** Reproductive Herd Health Program. Erişim: <http://www.wvu.edu/~agexten/forglvst/Dairy/dirm18.pdf>. **2007**. Erişim tarihi: 12.06.2014.
68. **IETS.** Bovine In Vivo Embryo Slide Set Tutorial. Erişim: <http://www.iets.org>. **2010**. Erişim tarihi: 21.12.2016.
69. **Jones B, Bowen A, Martin M, Ax R.** Dietary Essential Fatty Acids and Reproduction in Dairy Cows. Erişim : <http://www.highplainsdairy.org/2008/09%20Ax.pdf>. **2008**. Erişim tarihi: 15.06.2014.
70. **Jorritsma R, Wensing T, Kruip TAM, Vos PLAM, Noordhuizen JPTM.** Metabolic Changes in Early Lactation and Impaired Reproductive Performance in Dairy Cows. *Vet. Res.*, **2003**, 34(1): 11-26.
71. **Kalkan C, Öcal H.** *Çiftlik Hayvanlarında Doğum ve Jinekoloji. Üreme Fizyolojisi*. 2. Baskı, Medipres Matbaacılık Yayıncılık Ltd. Şti., Malatya, **2015**, s. 15-57.
72. **Kanagawa H, Shimohira I, Saitoh N.** Manual of Bovine Embryo Transfer. National Livestock Breeding Center MAFF, JICA-Japan, **1995**.
73. **Kassa T, Ambrose JD, Adams AL, Risco C, Staples CR ve ark.** Effects of Whole Cottonseed Diet and Recombinant Bovine Somatotropin on Ovarian Follicles in Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, **2002**, 85(11): 2823–2830.
74. **Kaymaz M.** *Çiftlik Hayvanlarında Doğum ve Jinekoloji. Yardımcı Üreme Teknikleri*. 2. Baskı, Medipres Matbaacılık Yayıncılık Ltd. Şti., Malatya, **2015**, s. 695-811.
75. **Küçükersan MK.** *Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları. Lipitler ve Metabolizması*. 4. Baskı, Pozitif, Ankara, **2008**, s. 49-61.
76. **Lammoglia MA, Willard ST, Hallford DM, Randel RD.** Effects of Dietary Fat on Follicular Development and Circulating Concentrations of Lipids and Insulin on Follicular Development and Circulating Concentrations of Lipids, Insulin, Progesterone, Estradiol 17 β -13,14-Dihydro-15-Keto-Prostaglandin F2 α and Growth Hormone in Estrous Cyclic Brahman Cows. *J. Anim. Sci.*, **1997**, 75(6): 1591-1600.
77. **Leroy JL, Vanholder T, Mateusen B, Christophe A, Opsomer G ve ark.** Non-Esterified Fatty Acids in Follicular Fluid of Dairy Cows and Their Effect on Developmental Capacity of Bovine Oocytes in Vitro. *Reproduction*, **2005**, 130(4): 485-495.
78. **Leroy JL, Sturmey RG, Van Hoeck V, De Bie J, McKeegan PJ ve ark.** Dietary Lipid Supplementation on Cow Reproductive Performance and Oocyte and Embryo Viability: A Real Benefit? *Anim. Reprod.*, **2013**, 10(3): 258-267.
79. **Lessard M, Gagnon N, Petit HV.** Immune Response of Postpartum Dairy Cows Fed Flaxseed. *J. Dairy Sci.*, **2003**, 86(8): 2647-2657.
80. **Lucy MC.** Reproductive Loss in High-Producing Dairy Cattle: Where Will It End? *J. Dairy Sci.*, **2001**, 84(6): 1277-1293.
81. **Mapletoft RJ, Steward KB, Adams GP.** Recent Advances in the Superovulation in Cattle. *Reprod Nutr. Dev.*, **2002**, 42: 601-611.
82. **Mapletoft RJ.** Bovine Embryo Transfer. Erişim: International Veterinary Information Service, Ithaca NY, (www.ivis.org). **2006**. Erişim tarihi: 17.11.2016.
83. **Marei WF, Wathes DC, Fouladi-Nashta AA.** The Effect of Linolenic Acid on Bovine Oocyte Maturation and Development. *Biol Reprod.*, **2009**, 81(6): 1064-1072.

84. **Mashek DG, Bertics SJ, Grummer RR.** Effects of Intravenous Triacylglycerol Emulsions on Hepatic Metabolism and Blood Metabolites in Fasted Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, **2005**, 88(1): 100-109.
85. **Mattos R, Staples CR, Thatcher WW.** Effects of Dietary Fatty Acids on Reproduction in Ruminants. *Rev. of Reprod.*, **2000**, 5(1): 38-45.
86. **Mattos R, Staples CR, Williams J, Amorocho A, Mc Guire MA, Thatcher WW.** Uterine, Ovarian, and Production Responses of Lactating Dairy Cows to Increasing Dietary Concentrations of Menhden Fish Meal. *J Dairy Sci.*, **2002**, 85(4): 755-764.
87. **Merton JS, de Roos AP, Mullaart E, de Ruigh L, Kaal L ve ark.** Factors Affecting Oocyte Quality and Quantity in Commercial Application of Embryo Technologies in the Cattle Breeding Industry. *Theriogenology*, **2003**, 59 (2): 651-674.
88. **Mikkola M, Mäntysaari P, Tammiranta N, Peippo J, Taponen J.** Effect of Dietary Protein on Embryo Recovery Rate and Quality in Superovulated Heifers. *Anim Reprod Sci.*, **2005**, 87(3-4): 193-202.
89. **Moriel P, Cappellozza BI, Ferraretto LF, Aboin AC, Vieira FVR ve ark.** Effects of Supplementation of Calcium Salts of Polyunsaturated Fatty Acids on Serum Concentrations of Progesterone and Insulin of Pregnant Dairy Cows. *R. Bras. Zootec.*, **2014**, 43(1): 20-26.
90. **Mulligan FJ, O'Grady L, Rice DA, Doherty ML.** A Herd Health Approach to Dairy Cow Nutrition and Production Diseases of The Transition Cow. *Anim. Reprod. Sci.*, **2006**, 96: 331-353.
91. **Muller M, Prado IN, Júnior ARL, Silva RR ve ark.** Ω -3 and Ω -9 on Performance, Superovulatory Response and Embryo Production in Nellore Heifers. *Arch. Zootec.*, **2009**, 58(222): 241-252.
92. **Nolan R, O'Callaghan D, Duby RT, Lonergan P, Boland MP.** The Influence of Short-Term Nutrient Changes on Follicle Growth and Embryo Production Following Superovulation in Beef Heifers. *Theriogenology*, **1998**, 50(8): 1263-1274.
93. **Novotný F, Hajurka J, Macák V.** Relationship Between Blood Serum Progesterone Levels in Cattle Donors and the Yield and Quality of Embryos. *Bull Vet. Inst. Pulawy*, **2005**, 49: 49-52.
94. **NRC.** Nutrient Requirement of Dairy Cattle. 7th revised ed., National Academy Press, Washington DC, 2001.
95. **Oldick BS, Staples CR, Thatcher WW, Gyawu P.** Abomasal Infusion of Glucose and Fat - Effect on Digestion, Production, and Ovarian and Uterine Functions of Cows. *J. Dairy Sci.*, **1997**, 80: 1315-1328.
96. **Pabuçcuoğlu S.** İneklerde Üremenin Kontrolü ve Embriyo Transferi. Erişim: aves.istanbul.edu.tr/ImageOfByte.aspx?Resim=8&SSNO=7&USER=1653. **2013**. Erişim tarihi: 28.10.2015.
97. **Petit HV, Dewhurst RJ, Scollan ND, Proulx JG, Khalid M ve ark.** Milk Production and Composition, Ovarian Function and Prostaglandin Secretion of Dairy Cows Fed Omega-3 Fats. *J.Dairy Sci.*, **2002**, 85(4): 889-899.
98. **Petit HV, Twagiramungu H.** Conception Rate and Reproductive Function of Dairy Cows Fed Different Fat Sources. *Theriogenology*, **2006**, 66: 1316-1324.
99. **Petit HV, Cavalieri FB, Santos GT, Morgan J, Sharpe P.** Quality of Embryos Produced from Dairy Cows Fed Whole Flaxseed and the Success of Embryo Transfer. *J Dairy Sci.*, **2008**, 91(5): 1786-1790.

100. **Pires JAA, Grummer RR.** Specific Fatty Acids as Metabolic Modulators in the Dairy cow. *R. Bras. Zootec.*, **2008**, 37: 287-298 .
101. **Ponter AA, Parsy AE, Saadé M, Mialot JP, Ficheux C ve ark.** Effect of A Supplement Rich in Linolenic Acid Added to the Diet of Post Partum Dairy Cows on Ovarian Follicle Growth, and Milk and Plasma Fatty Acid Compositions. *Reprod. Nutr. Dev.*, **2006**, 46(1): 19-29.
102. **Pryce JE, Royal MD, Garnsworthy PC, Mao IL.** Fertility in the High-Producing Dairy Cow. *Livestock production science*, **2004**, 86: 125-135.
103. **Ptaszynska M. Çeviri Editör Fındık M.** *Ruminanatlarda Reprodüksiyon. Sığırlarda Üreme Özellikleri.* 10. Baskı, MSD Hayvan Sağlığı, İstanbul, **2009**, s. 19-154.
104. **Rivera FA, Mendonça LG, Lopes GJr, Santos JE, Perez RV ve ark.** Reduced Progesterone Concentration During Growth of the First Follicular Wave Affects Embryo Quality But Has No Effect on Embryo Survival Post Transfer in Lactating Dairy Cows. *Reproduction*, **2011**, 141(3): 333-342.
105. **Robinson RS, Pushpakumara PG, Cheng Z, Peters AR, Abayasekara DR ve ark.** Effects of Dietary Polyunsaturated Fatty Acids on Ovarian and Uterine Function in Lactating Dairy Cows. *Reproduction*, **2002**, 124(1): 119-131.
106. **Robinson JJ, Ashworth CJ, Rooke JA, Mitchell LM, McEvoy TG.** Nutrition and Fertility in Ruminant Livestock. *Animal Feed Science and Technology*, **2006**, 126(3-4): 259-276.
107. **Rodney RM, Celi P, Scott W, Breinhild K, Lean IJ.** Effects of Dietary Fat on Fertility of Dairy Cattle: A Meta-Analysis and Meta-Regression. *J. Dairy Sci.*, **2015**, 98: 5601-5620.
108. **Rogers P.** Bovine Fertility and Control of Herd İnfertility. Erişim: <http://homepage.eircom.net/~progers/infertil.htm>. **2007**. Erişim tarihi: 19.05.2013.
109. **Ross W.** Embryo transfer in cattle. Maffra Secondary College. Erişim: http://www.cruachan.com.au/embryo_transfer.htm . **1992**. Erişim tarihi: 10.10.2016.
110. **Sağırkaya H.** Sığırlarda Embriyo Transfer Uygulaması ve Türkiye Açısından Önemi. *Uludağ Univ. J. Fac. Vet. Med.*, **2009**, 2(28): 11-19.
111. **Saijpaal S, Naik PK, Ranı N.** Effects of Rumen Protected Fat on *In Vitro* Dry Matter Degradability of Dairy Rations. *Indian Journal of Animal Science*, **2010**, 80(10): 993-997.
112. **Salehi R, Colazo MG, Tsoi S, Behrouzi A, Tsang BK ve ark.** Morphologic and Transcriptomic Assessment of Bovine Embryos Exposed to Dietary Long-Chain Fatty Acids. *Reproduction*, **2016**, 152: 715-726.
113. **Salfer JA, Linn JG, Otterby DE, Hansen WP.** Early Lactation Responses of Holstein Cows Fed a Rumen-İnert Fat Prepartum, Postpartum or Both. *J. Dairy Sci.*, **1995**, 78(2): 368-377.
114. **Santos JEP.** Dietary Ingredients and Nutritional Management Impact Fertility in Dairy Cattle. Erişim: <http://www.nupel.uem.br/pos-ppz/eduardo-nutritional.pdf>. **2001**. Erişim tarihi: 24.09.2015.
115. **Santos JEP.** Impact of Nutrition on Dairy Cattle Reproduction. Erişim: <http://www.highplainsdairy.org/2008/10%20Santos.pdf>. **2008**. Erişim tarihi: 18.12.2015.
116. **Santos JEP, Cerri RL, Sartori R.** Nutritional Management of the Donor Cow. *Theriogenology*, **2008**, 69(1): 88-97.
117. **Sartori R, Bastos MR, Wiltbank MC.** Factors Affecting Fertilisation and Early Embryo Quality in Single and Superovulated Dairy Cattle. *Reprod Fertil. Dev.*, **2010**, 22(1): 151-158.

118. **Scott TA, Shaver RD, Zepeda L, Yandell B, Smith TR.** Effects of Rumen-Inert Fat on Lactation, Reproduction and Health of High Producing Holstein Herds. *J. Dairy. Sci.*, **1995**, 78(11): 2435-2351.
119. **Selk G.** Embryo Transfer in Cattle. Erişim: <http://osuextra.okstate.edu/pdfs/F-3158web.pdf>, **2006**. Erişim tarihi: 23.05.2016.
120. **Seidel GE, Seidel SM.** Training Manual for Embryo transfer in Cattle. Erişim: <http://www.fao.org/DOCREP/004/T0117E/T0117E00.htm>. **1991**. Erişim tarihi: 12.09.2016.
121. **Silva JCC, Alvarez RH, Zanenga CA, Pereira GT.** Factors Affecting Embryo Production in Superovulated Nelore Cattle. *Anim. Reprod.*, **2009**, 6(3): 440-445.
122. **Smith OB, Akinbamijo OO.** Micronutrients and Reproduction in Farm Animals. *Animal Reproduction Science*, **2000**, 60-61(2000): 549-560.
123. **Spicer LJ, Verron RK, Tucker RP, Wettemann RP, Adams GD.** Effects of Protected Fat on Plasma Concentrations of Cholesterol and Progesterone in Lactating Dairy Cows. *Animal Science Research Report*, **1993**, s. 175-178.
124. **SPSS for Windows.** Base System User's Guide, Release 11.5, PSS Inc. Chicago, USA, 1999.
125. **Staples CR, Burke JM, Thatcher WW.** Influence of Supplemental Fats on Reproductive Tissue and Performance of Lactating Cows. *J. Dairy Sci.*, **1998**, 81(3): 856-871.
126. **Studer E.** A Veterinary Perspective of On-Farm Evaluation of Nutrition and Reproduction. *Journal of Dairy Science*, **1998**, 81(3): 872-876.
127. **şenünver A, Nak Y.** *Çiftlik Hayvanlarında Doğum ve Jinekoloji.* İnfertilite. 2. Baskı, Medipres Matbaacılık Yayıncılık Ltd. şti., Malatya, **2015**, s. 409-467.
128. **şirin E, Kuran M.** Rasyondaki Yağ Asitlerinin Ruminantlarda Üreme Fonksiyonları Üzerine Etkisi. 4. Ulusal Zootekni Bilim Kongresi. İsparta, Türkiye, 1-3 Eylül 2004, s. 54-61.
129. **Takahashi M, Sawada K, Kawate N, Inaba T, Tamada H.** Improvement of Superovulatory Response and Pregnancy Rate after Transfer of Embryos Recovered from Japanese Black Cows Fed Rumen Bypass Polyunsaturated Fatty Acids. *J. Vet. Med. Sci.*, **2013**, 75(11): 1485-1490.
130. **Tekeli T.** *Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite.* Embriyo Nakli. 7. Baskı, Medisan Yayınları, Ankara, **2010**, s. 81-97.
131. **Tessaro FH, Ayala TS, Martins JO.** Lipid Mediators are Critical in Resolving Inflammation: A Review of the Emerging Roles of Eicosanoids in Diabetes Mellitus. *Biomed Res. Int.*, **2015**, s. 8.
132. **Thatcher WW ve Staples CR.** Effects of Dietary Fat Supplementation on Reproduction in Lactating Dairy Cows. Erişim: <http://www.wcds.ca/proc/2000/Manuscripts/Chapter%2018%20-%20Thatcher.pdf>. **2000**. Erişim tarihi: 14.10.2014.
133. **Thatcher WW, Bilby T, Staples CR, MacLaren L, Santos J.** Effects of Polyunsaturated Fatty Acids on Reproductive Processes in Cattle. *Dept. Anim. Sci.*, **2004**, s. 1-28.
134. **Thatcher WW, Bilby TR, Bartolome JA, Silvestre F, Staples CR ve ark.** Strategies for İmproving Fertility in the Modern Dairy Cow. *Theriogenolog*, **2006**, 65(1): 30-44.
135. **Thangavelu G, Colazo MG, Ambrose DJ, Oba M, Okine EK ve ark.** Diets Enriched in Unsaturated Fatty Acids Enhance Early Embryonic Development in Lactating Holstein Cows. *Theriogenology*, **2007**, 68: 949-957.

136. **Thomas MG, Bao B, Williams GL.** Dietary Fats Varying in Their Fatty Acid Composition Differentially Influence Follicular Growth in Cows Fed Isoenergetic Diets. *J. Anim. Sci.*, **1997**, 75(9): 2512-2519.
137. **Tuncer ŞD.** *Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları.* Süt Sığırlarının Beslenmesi. 4. Baskı, Pozitif, Ankara, **2008**, s. 253-305.
138. **Tuncer ŞD, Çolpan İ, Yıldız G.** *Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları.* Ruminantlarda Beslenme Hastalıkları. 4. Baskı, Pozitif, Ankara, **2008**, s. 371-400.
139. **Tur İ.** Koyun Rasyonundaki Ham Protein Oranının Kan Üre Nitrojen, Ovaryum Fonksiyonu, Fertilizasyon, Uterus Fizyoloji ve Embriyo Kalitesi Üzerine Etkisi. Doktora tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya, **2014**.
140. **Türkmen İ.** Süt Sığırı Rasyonlarına Yağ Katılmalı mı? *Tüsedad*, **2010**, 1(5): 19.
141. **Türkmen İ.** Süt Sığırlarında Geçiş Döneminde Görülen Metabolizma Hastalıklarının Önlenmesine Yönelik Besleme Stratejileri. *Türkiye Klinikleri J. Vet. Sci.*, **2011**, 2(2): 171-176.
142. **Türkmen İ.** Süt İneklerinde Erken Dönem Bypass Yağ Kullanımı. 4. Sürü Sağlığı ve Yönetimi Sempozyumu. Antalya, Türkiye, 25-28 Mayıs 2016, s. 16-30.
143. **Yaakub H, O'Callaghan D, O'Doherty JV, Boland MP.** Effect of Dietary Intake on Follicle Numbers and Oocyte Morphology in Unsuperovulated and Superovulated Ewes. *Theriogenology*, **1997**, 47 (1): 182.
144. **Urlep Z, Rozman D.** The Interplay between Circadian System, Cholesterol Synthesis, and Steroidogenesis Affects Various Aspects of Female Reproduction. *Front Endocrinol (Lausanne)*, **2013**, 4: 111.
145. **Yaakub H, O'callaghan D, Boland MP.** Effect of Type and Quality of Concentrates on Superovulation and Embryo Yield in Beef Heifers. *Theriogenology*, **1999**, 51(7): 1259-1266.
146. **Yavuz HM.** *Süt Sığırlarının Beslenmesi.* Çiftlik Hayvanlarının Beslenmesinde Temel Prensipler Ve Karma Yem Üretiminde Bazı Bilimsel Yaklaşımlar. 1. Baskı, Figür Tanıtım Reklam ve Matbaacılık Ltd. Şti., İstanbul, **2001**, s. 214-223.
147. **Wiltbank MC, Carvalho PD, Mecitoğlu GB, Gençoğlu H, Santos JEP ve ark.** Etiology and Prevention of Early Embryonic Death in Dairy Cows. 3. Sürü Sağlığı ve Yönetimi Sempozyumu. Antalya, Türkiye, 6-9 Kasım 2014, s. 44-66.
148. **Wrenzycki C, de Sousa P, Overström W, Duby ERT, Herrmann D ve ark.** Effects of Superovulated Heifer Diet Type and Quantity on Relative mRNA Abundances and Pyruvate Metabolism in Recovered Embryos. *Journal of Reproduction and Fertility*, **2000**, 118: 69-78.
149. **Zachut M, Dekel I, Lehrer H, Arieli A, Arav A ve ark.** Effects of Dietary Fats Differing in n-6:n-3 Ratio Fed to High-Yielding Dairy Cows on Fatty Acid Composition of Ovarian Compartments, Follicular Status, and Oocyte Quality. *J. Dairy Sci.*, **2010**, 93(2): 529-545.
150. **Zeron Y, Sklan D, Arav A.** Effect of Polyunsaturated Fatty Acid Supplementation on Biophysical Parameters and Chilling Sensitivity of Ewe Oocytes. *Mol. Reprod. Dev.*, **2002**, 61(2): 271-278.
151. **Zeron Y, Ocheretny A, Kedar O, Borochoy A, Sklan D ve ark.** Seasonal Changes in Bovine Fertility: Relation to Developmental Competence of Oocytes, Membrane Properties and Fatty Acid Composition of Follicles. *Reproduction*, **2001**, 121(3): 447-454.

ÖZGEÇMİŞ

Serdal ÇOBAN, 1977 yılında Adana'da doğdu. 2000 yılında kazandığı Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden Veteriner Hekim unvanıyla 2005 yılında mezun oldu. Hatay Yayladağı Gıda, Tarım ve Hayvancılık İlçe Müdürlüğü'ne 2007 yılında veteriner hekim olarak atandı. 2009 yılında Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nde görev yapmaya başladı ve halen aynı kurumda görevini sürdürmektedir. 2011 yılında başladığı Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı doktora öğrenimine devam etmektedir. Evli ve iki çocuk babasıdır.