

**KOYUNLARDA KIRKIM ÖNCESİ C VİTAMİNİ ve HUMİK ASİT UYGULAMASININ
KIRKIM STRESİNİ AZALTMASINDAKİ ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Ziraat Mühendisi Abdullah ALADAŞ

ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Emine Hesna KANDIR

Tez NO: 2013-004

2013-Afyonkarahisar

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KOYUNLARDA KIRKIM ÖNCESİ C VİTAMİNİ ve
HUMİK ASİT UYGULAMASININ KIRKIM STRESİNİ
AZALTMASINDAKİ ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Ziraat Mühendisi Abdullah ALADAŞ

ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Emine Hesna KANDIR

Bu tez Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından
11.SAĞ.BİL.06 proje numarası ile desteklenmiştir.

Tez No: 2013-004

2013-Afyonkarahisar

KABUL ve ONAY

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Zootekni Programı

çerçevesinde yürütülmüş bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından

Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi; 17/04/2013

Prof. Dr. Erol ŞENGÖR

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Jüri Başkanı

Doç. Dr. Emine Hesna KANDIR

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Üye

Yrd. Doç.Dr. Can gir UYARLAR

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Üye

Zootekni Anabilim dalı Yüksek Lisans öğrencisi Abdullah ALADAŞ'ın "**Koyunlarda Kırkım Öncesi C Vitamini ve Humik Asit Uygulamasının Kırkım Stresini Azaltmasındaki Etkisinin İncelenmesi**" tezi 24.04.2013 günü saat 13;⁰⁰ da Lisans Üstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Kağan ÜÇOK
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Yüksek Lisans eğitimim sırasında ilgi, sevgi, sabır ve anlayışı ile yardımını ve hoşgörüsünü esirgemeyen, her konuda çok büyük desteğini gördüğüm Zootekni AB Öğretim Üyesi ve Danışman Hocam **Sayın Doç.Dr Emine Hesna KANDIR'a**,

Yüksek Lisans Eğitimim ve tez çalışmalarım sırasında maddi ve manevi her türlü desteklerini esirgemeyen AKÜ Vet. Fakültesi Zootekni ve Hayvan Besleme Bölümü Öğretim Üyelerinden Sayın Hocalarım **Doç. Dr. Mehmet YARDIMCI, Prof.Dr. Erol ŞENGÖR, Prof.Dr. İsmail BAYRAM, Doç.Dr. İ.Sadi CETİNGÜL'e**,

Tezin her aşamasında bilgilerinin yanı sıra bizlere deneysel aşamada da destek veren yine Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyelerinden Sayın Hocam **Yrd. Doç.Dr. Cangir UYARLAR'a**,

Kan analizlerinin yapılması hususunda desteklerini esirgemeyen AKÜ Tıp Fakültesi Biyokimya AD'da öğretim üyelerinden **Prof.Dr. Ahmet KAHRAMAN'a**, ve aynı Anabilim Dalında görev yapan Araştırma görevlileri **Sayın Dr.Ayhan VURMAZ ve Dr. Halit Buğra KOCA'ya**,

Yine tezin özellikle deneysel aşamasında çalışmamıza destek olan, **Araş.Gör. Evüp Eren GÜLTEPE ve Yüksek Lisans öğrencisi Veteriner Hekim Mahmut Emir DEMİRCİOĞLU'na**,

Humik asit konularında bizlerle bilgi birikimlerini paylaşarak, teze büyük katkı sağlayan Sakarya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya AD Öğretim Üyelerinden Prof.Dr. Ahmet TUTAR ve Sayın Dr. Mümin Dizman'a

Tez çalışmam süresince yardımlarını asla esirgemeyen **KÜHAM çiftliği çalışanlarına**,

Tez projemizi destekleyen Afyon Kocatepe Üniversitesi, **Bilimsel Araştırma Projeler Komisyonu Başkanlığı'na**,

Ve son olarak da beni bugünlere taşıyan **aileme**,

En yürekten teşekkürlerimi sunarım...

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Kabul ve Onay.....	i
Önsöz.....	ii
İçindekiler.....	iii
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini.....	v
Tablolar Dizini.....	vii
1.GİRİŞ.....	1
1.1.Araştırmanın Amacı.....	1
1.2.Hayvan Refahı Kavramının Doğuşu ve Gelişimi.....	4
1.3.Çiftlik HayvanlarındaStresin Fizyolojik ve Hormonal Mekanizması.....	8
1.4.Çiftlik Hayvanları Üzerinde Sürü İdaresine Bağlı Olarak Şekillenen Önemli Stres Faktörleri ve Etkileri	13
1.4.1..Yerleşim Sıklığı.....	13
1.4.2.Çevre Sıcaklığı.....	15
1.4.3..Nakil-Transfer.....	18
1.4.4.Temas-Muamele-İdare.....	19
1.5.Çiftlik Hayvanlarında Vitamin C ve Humik Asitin Kullanım Alanları.....	24
1.5.1.Vitaminin tanımı ve tarihçesi.....	24
1.5.2.C Vitamini (L-Askorbik Asit)ve Kombinasyonları	25
1.5.3.Humatlar.....	27
1.5.3.1. Humatların kimyasal yapısı ve özellikleri.....	27
1.5.3.2.Humat bileşiklerinden Humik asit.....	28
1.5.3.3.Humik Asitlerin Toksikolojisi ve Güvenliği.....	30
1.5.3.4.Humik Asitlerin Beşeri Tıp Alanındaki Yeri	31
1.5.3.5..Humik Asitlerin Veteriner Tıp ve Ziraat Alanındaki Yeri.....	32
2.GEREÇ ve YÖNTEM.....	38
2.1.Gereç	38
2.1.1.Hayvan Materyali.....	38
2.1.2.Deneme Sahası	38

2.1.3.Yem materyali.....	38
2.2. Yöntem.....	39
2.2.1.Denemede Kullanılan Süspansiyonlar.....	39
2.2.1.1.İzotonik Sodyum Klorür Süspansiyonu.....	39
2.2.1.2.Vitamin C.....	39
2.2.1.3. Humik Asit.....	39
2.2.2.Çalışma Planı.....	41
2.2.2.1.Biyokimyasal Stres Parametrelerin Ölçümünde Kullanılan Yöntemler.....	43
2.2.2.1.1. GSH (Reduced Glutathione) Ölçümü.....	44
2.2.2.1.2. MDA (Malondialdehyde) Ölçümü.....	45
2.2.2.1.3.TAS (Total Antioksidan Aktivite) Ölçümü.....	45
2.2.2.1.4. KORTİZOL Ölçümü.....	45
2.2.2.1.5.NEFA(Non Esterified Fatty Acid (Esterleşmemiş Yağ Asidi-Serbest Yağ Asidi).....	45
2.2.2.1.6.İstatistik Analizler.....	46
3.BULGULAR.....	47
4.TARTIŞMA.....	55
5.SONUÇ.....	59
ÖZET.....	61
SUMMARY.....	63
KAYNAKLAR.....	65
ÖZGEÇMİŞ.....	79

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

FAWC; Farm Animal Welfare Council

ACTH; Adrenokortikotropik Hormon

HPA; Hipotalamo-Hipofizeal-Adrenokortikal

SAS; Sempato-Adrenal sistem

CRF;Kortikotropin- salgılatıcı faktör.(Corticotropin Releasing Factor)

NEFA; Esterleşmemiş yağ asidi. (Non Esterified Fatty Acid)

TAS;Toplamantioksidanaktivite. (Total Plasma Anti Oksidan Aktivite)

MDA;Malondialdehit

GSH; Glutasyon.

GSHPx; Glutasyon peroksidaz.

CAT; Katalaz Enzimi

TAS; Toplam antioksidan statü (Total Antioxidant Status)

T3;Triiyodotironin Hormon

T4;Tiroidin Hormon

H/L; heterofililerin lenfositlere oranı

FPCM; yağ ve proteine göre düzeltilmiş süt verimi.

L; Litre

NaCl; Sodyum Klorür

LDL; Düşük yoğunluklu lipoprotein

Xylazine -HCL; Ksilazin Acetyl carnitine. Yatıştırıcı, kas gevşetici ve preanestezik olarak kullanılan bir ilaç.

sıcaklık; °C

dakika; dk

K; Potasyum

Na; Sodyum

dm²;desimetre kare.

ml; mililitre.

ca; canlı ağırlık.

mg; miligram.

kg; kilogram.

mg/kg; miligram/kilogram.

meq; miliekivalan. Ekivalantın binde biridir.

mg/kg ca; miligram/kilogram canlı ağırlık.

mg/ml; miligram/mililitre.

ca/gün; canlı ağırlık/gün.

ppm;(Parts Per million) Milyon'da bir parçacık anlamına gelmektedir.

ph;Potansiyel hidrojen.

mg dL; desilitre başına miligram.

cc;Santimetre küp. Sıvı İlaçların ölçülmesinde kullanılır ve cc ile gösterilir.

rpm; Santrifüj işleminde dakikadaki devir sayısı.

µl;mikrolitre.

nm;nanometre

kcal; kilokalori

TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo1. Kırkım öncesi tüm gruplarda fizyolojik ve biyokimyasal stres ölçüm parametre değerleri.....	50
Tablo2. Kırkım sonrası tüm gruplarda fizyolojik ve biyokimyasal stres ölçüm parametre değerleri.....	51
Tablo3. Tüm grupların kırkım öncesi ve sonrası stres ölçüm parametrelerinin ortalama değerleri	52
Tablo4. Stres ölçüm parametrelerinde kırkım öncesi ve sonrası parametre değerlerinde değişim oranı.....	52
Tablo5. Kırkım öncesi ve kırkım sonrası rektal ısı (°C) değerlerinin grup içi ve gruplar arasında karşılaştırılması.....	53
Tablo6. Kırkım öncesi ve kırkım sonrası nabız değerlerinin (vuruş/dakika) grup içi ve gruplar arasında karşılaştırılması.....	53
Tablo7. Kırkım öncesi ve kırkım sonrası solunum değerlerinin (devir/dakika) grup içi ve gruplar arasında karşılaştırılması.....	53
Tablo8. Kırkım öncesi ve kırkım sonrası GSH (nmol/g hgb) değerlerinin grup içi ve gruplar arasında karşılaştırılması.....	53
Tablo9. Kırkım öncesi ve kırkım sonrası MDA (uM) değerlerinin grup içi ve gruplar arasında karşılaştırılması	54
Tablo10. Kırkım öncesi ve kırkım sonrası Kortizol (ng/mL) değerlerinin gruplar içi ve arasında karşılaştırılması.....	54
Tablo11. Kırkım öncesi ve kırkım sonrası NEFA (mmol/l) değerlerinin gruplar içi ve arasında karşılaştırılması	54
Tablo12. Kırkım öncesi ve kırkım sonrası TAS (mM) değerlerinin grup içi ve gruplar arasında karşılaştırılması	54

GİRİŞ

1.1. Araştırmanın Amacı

Stres, canlının vücuttaki sabit iç dengesini (homeostasisi) tehdit eden iç veya dış uyaranlara karşı, anatomik, fizyolojik ve davranışsal değişiklikler şeklinde verilen biyolojik bir cevap olarak tanımlanabilir. İnsanlarda olduğu gibi stres, hayvanlarda da sağlığı tehdit eden önemli bir faktördür. Çiftlik hayvanlarında gözlemlenen stres; bağışıklık sisteminde zayıflama, sindirim sistemi problemleri, üreme ve büyüme fonksiyonlarında durma ve daha ileri durumlarda yorgunluğa bağlı ölümler şeklinde ekonomik kayıplara yol açabilmektedir (Kelley, 1980.)

Stres ölçülebilen bir değişkendir. Stresin varlığı; sağlık, verim, davranış ve fizyolojik parametreler ile belirlenebilir. Özellikle stresin varlığının tespiti; vücut sıcaklığı, hormon konsantrasyonu, solunum ve nabız hızı gibi fizyolojik değişkenlerde meydana gelen sapmaların belirlenmesi esasına dayanır.

Rektal ısı, Nabız ve solunum hızı gibi fizyolojik parametreler hayvan sağlığı açısından tanımlayıcı parametrelerdir. Bu parametreler, evcil hayvanların birçok çevresel stres faktörlerine uyumluluklarını gösterirler (Minka ve Ayo, 2009).

Hayvan sağlığı ve gıda güvenliğinin anahtar faktörü olan, sürü sağlık denetim hizmetleri içerisinde “sürü refahı” önemli bir unsurdur. Stres altındaki hayvanlar daha kolay hastalanmakta, bunun sonucu olarak daha fazla ilaç kullanılmakta dolayısıyla hayvansal ürünlerde ilaç kalıntıları artmakta ve bu da halk sağlığını tehdit etmektedir. Bu nedenle hayvanlarda strese yol açan faktörlerin dikkatle incelenmesi ve bunu oluşturan etkenlerin ortadan kaldırılmasına yönelik uygulamaların hayata geçirilmesi gereklidir (Altınçekiç ve Koyuncu, 2012). Bir hayvanın stres faktörlerine maruz kalma durumu doğru bir şekilde yönetilebilirse hayvanların verimine olumlu katkıda bulunacağı gibi hayvan refahını da artıracaktır.

Son yıllarda popülaritesi artmış bir şekilde gündeme gelen hayvan refahı terimi; günümüzde, insan yönetimindeki hayvanların temel gereksinimlerinin karşılanması konu edinen bir bilim dalı olarak tanımlanmaktadır. Hayvan refahı; hayvancılığın yüksek standartlardaki çiftliklerde yapılması ve buralardan temin edilen hayvansal ürünlerin güvenlik marjları içinde sofralara gelmesini amaçlamaktadır.

Konuyla ilgili hazırlanan Avrupa Birliği mevzuatı son 30 yıl içerisinde hayvanların korunmasını artırmak için geniş ölçüde değiştirilmiştir. Son AB şartnamesi olan 1/2005 nolu konsey tüzüğü (EC) 5 Ocak 2007 den itibaren yürürlüğe girmiştir. Avrupa Birliğinde, bahsedilen bu mevzuatlarda hayvansal üretimde, hayvanların fizyolojik ve davranımsal ihtiyaçlarının bilimsel veriler doğrultusunda yetiştirme sistemlerinin kurulması istenmiş ve minimum standartlar belirlenmiştir (Zanardi ve ark., 2007)

Türkiye de, dünyada yaşanan bu gelişmelere kayıtsız kalmamış, doğal kaynaklarını devreye sokarak Tarım Bakanlığı ve Üniversite İşbirliğiyle ülke genelinde hayvancılıkta AB uyum yasalarına göre sektöre verilen ve zamanla artan sübvansiyonlar sayesinde, hayvan hak ve refahı uygulamalarını da gözeterek stres ortamı mümkün olduğunca minimum koşullarda tutularak, sağlıklı yetiştiricilik ve gıda üretimi hızla yer almaya başlamıştır. Ülkemiz üreticileri, geçmişte hayvancılık sektöründe geleneksel yöntemler sonucu rantabl üretim ve üretimin devamı için yaşanan acı tecrübeler ışığında gelişmiş ülkelerin hayvancılığa olan ilgi ve bakış açılarını örnek almaya başlamıştır. Üretim koşulları dikkate alınarak hayvanlara yapılan muamelede teknik ve eğitimli elemanların yetiştirilmesi, dengeli bakım besleme, ağrısız tedavi uygulamaları, gebe hayvanların bakımı ve taşınması, toplu halde transfer koşulları, işletme koşullarında hayvanlara sağlanan yeterli hareket alanı, ışık, sıcaklık, havalandırma ve sosyal davranışları için birlikte bulunma gereksinimleri sağlanarak minimum stresle maksimum verim elde edilmeye yönelim olmuştur.

Üniversiteler ilgili fakülte ve enstitüleri aracılığıyla hayvancılıkta metodolojik yolla elde edilen stresi önlemek ve hayvancılıkta verimi arttırmak amacıyla elde edilen önemli bilimsel verileri dünya çapında ve ulusal olarak yayınlamıştır. Bilimin etkisiyle zaman içinde stresle ilgili gelişmelerin sağlanmasında ki temel yapı İngiltere de FAWC (*Farm Animal Welfare Council (FAWC) in December 1979*) tarafından 1979 yılının Aralık ayında yayınlanan Hayvancılıkta Refah ilkeleriyle doğrudan ilişkilidir.

AB uyum müktesebatının Türkiye hayvancılığındaki bu zorunlu yaptırımları, günümüzde yerli ve yabancı sivil toplum kuruluşlarının da katkılarıyla, reel sektör bu çalışmalara kayıtsız kalmamış yetiştiriciliğin hemen hemen her alanında zamanla ayak uydurmuştur. Örneğin; Konvansiyonel kanatlı yetiştiriciliğinde normal kafes tipinin zaman içerisinde bırakılıp zenginleştirilmiş kafes tiplerinin kullanımına geçilmesi (kanatlı yetiştiriciliğinde hayvanın kafes içerisinde tünek, küllenme ve folluk ihtiyacının karşılanması), kanatlı, büyükbaş ve küçükbaş hayvancılıkta hayvanların sosyal davranış ve hareket alanını kısıtlamayan, ihtiyaç duyduğunda yeme ve suya kolayca ulaşmasına olanak sağlayan free range barınak tiplerinin uygulanması, sağlıklı ve güvenilir gıda elde etmek adına organik hayvancılığın revaçta olması sektör içinde atılan önemli adımlardan bir kaçıdır.

Hayvan Refahında 5 temel ilke aşağıda sıralanmıştır;

- ◆ Açlığın ve susuzluğun önlenmesi,
- ◆ Ağrı, yaralanma ve hastalığın önlenmesi,
- ◆ Normal davranış biçimini sergileyebilme özgürlüğü tanınması,
- ◆ Korku ve stresin önlenmesi,
- ◆ Rahatsızlığın (Konfor) önlenmesi şartlarına dayanmaktadır (Ergin Ş.,2007)

Bu 5 temel ilke ve açıklamalardan anlaşılacağı gibi hayvancılıkta refahın stresle doğrudan ilintili bir kavram olduğu da ortaya çıkmaktadır.

1.2. Hayvan Refahı Kavramının Doğuşu ve Gelişimi

Broom (1991), Hayvan refahına “hayvanın yaşadığı çevre ile uyum içerisinde olabilme hali” olarak bir tanımlama getirmiştir. Broom, tarafından önerilen yaklaşım doğrultusunda refahın; hastalık, yaralanma ve anormal davranışlar konusundaki tespitlerin yanı sıra, stres ile ilişkili olabileceği ve bilinen fizyolojik değişimler ve üretim parametrelerinden yararlanılarak ölçülebilmesi mümkün görülmektedir (Keeling ve Jensen, 2002).

Söz konusu parametrelere ilişkin ölçümlerin gerçekleştirilebilmesi bakımından günümüzde birçok olanağın bulunmasına karşın, ortak bir değerlendirme düzleminde bu ölçütlerden hangi ağırlıkta yararlanılabileceği ve bu değerlendirmenin farklı koşullardan nasıl etkilenebileceği sorusuna verilecek cevabın bulunmaması önemli bir eksiklik olarak kabul edilmektedir. Örneğin, günümüzde üretim koşullarında gözlenebilecek birçok örnek, düşük performans düzeyinin kötü refah için bir işaret olabileceği, buna karşın yüksek performans özelliklerinin her zaman yüksek refah düzeyinin garantisi olmadığı gerçeğini desteklemektedir (Keeling ve Jensen, 2002).

Yalçın (2005) tarafından yapılan bir saha çalışmasında Türkiye’de süt sığırları işletmelerinde genellikle grup yemlemesi uygulanmakta, çok az işletmede ineklerin süt verimine göre bireysel besin madde ihtiyaçları karşılanmaktadır. Dolayısıyla grup yemlemesinde yüksek verimli hayvanlar süt verim düzeyine uygun beslenememektedirler. Bu da yüksek süt verimli hayvanlarda refah düzeyinin düşmesine neden olmaktadır. Ayrıca hijyen kurallarına tam olarak uyulmaması sonucu özellikle yüksek verimli ineklerde mastitis sorunu daha fazla görülmektedir. Nitekim aynı çalışmada, ülke genelindeki ineklerde, klinik mastitis oranları illere göre % 15-48 arasında olduğunu bildirilmektedir.

Hayvanların gereksinimleri, ilk defa, Ruth Harrison'un 1964'de İngiltere'de yayımlanan "Makineleşmiş Hayvanlar" adlı kitabında dile getirilmiştir. Savaş sonrasında çiftlik hayvanlarına uygulanan yoğun üretim yöntemlerini eleştiren ve az da olsa, toplumsal ilgi uyandırarak, dönemin hükümetini harekete geçiren kitabın ardından, yetiştiricilik yöntemlerinin irdelendiği Brambell Raporu yayımlanmıştır. Kılavuz niteliğindeki bu çalışmaları destekleyecek bilimsel araştırmalara duyulan gereksinim, hayvan refahı biliminin doğuşuna neden olmuştur. Sıkça karıştırılan hayvan refahı ve hayvan hakları kavramları, ortak düşünsel temelleri olan iki ayrı meseledir. İlki, hayvanların gereksinimlerini anlamak için nesnel araştırma yöntemlerinden yararlanan bir bilim dalı iken, ikincisi, hayvanlara, acı çekmelerini önleyecek birtakım haklar tanınmasını savunan felsefi ilkedden yola çıkılan bir harekettir. Kanadalı etik bilimci David Sztybel, hayvan refahına ilişkin görüşleri altı başlık altında sınıflandırmıştır.

1. Hayvan Sömürüsü Bağlamında Hayvan Refahı Anlayışı;

Ellerinde hayvan bulunduranların hayvanlara iyi davrandıklarına dair güvence vermesi talebi.

2. Yaygın Hayvan Refahı Anlayışı;

Sıradan insanın, hayvanlara acımasız davranışlar sergilenmesini önlemeye yönelik kaygı.

3. İnsancıl Hayvan Refahı Anlayışı;

Kürk yapımı için ve spor amaçlı kullanım hariç, hayvanlardan yararlanılan uygulamaların çoğunun benimsendiği ve hayvanlara karşı acımasız davranışlara gösterilen ilkeli tepki.

4. Hayvanların Özgürlüğü Bağlamında Hayvan Refahı Anlayışı;

Peter Singer'in öncüsü olduğu, hayvanların acı çekmesini en aza indirgemeyi amaçlayan, ancak, hayvanların tıp alanında deneysel kullanımı gibi yüce amaçları kabul eden felsefe.

5. Yeni Refah Anlayışı;

Gary Francione tarafından geliştirilen ve hayvanların insanlar tarafından kullanımını iyileştirmeye yönelik önlemlerin, zamanla hayvan kullanımını sonlandıracağına ilişkin görüş.

6. Hayvan Refahı/Hayvan Hakları Anlayışı;

Her iki kavramı birbirinden ayırmaksızın, bir bütün olarak ele alan görüş

Ruth Harrison'un "Makineleşmiş Hayvanlar" adlı kitabının yayınlanmasının ardından Prof. Dr. Roger Brambell, İngiltere Hükümetince yoğun üretimi yapılan çiftlik hayvanlarının refahını araştırmakla görevlendirilmiş ve Brambell Raporu doğrultusunda, Hükümet, 1967'de, daha sonra "Hayvan Refahı Kurulu" adını alan "Çiftlik Hayvanları Refahı Danışma Heyetini kurmuştur. Heyetin, "hayvanların, buldukları alan içerisinde dönme, tüylerini temizleme, ayağa kalkma, yatma ve bacaklarını uzatma özgürlüğüne sahip olmaları" yönündeki önerileri, hayvan refahının esasını oluşturan Beş Temel Özgürlüğün ana hatlarıdır. (Antalyalı, 2007)

Hayvan refahı acı, ızdırap ve stres gibi istenmeyen duygulardan uzak bir yaşamı hedeflerken (Dantzer, 2001) hayvanlarda strese karşı yanıtın oluşmaması refahın bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Broom DM. 1998).

1.3. Çiftlik Hayvanlarında Stresin Fizyolojik ve Hormonal Mekanizması

Hayvanlarda birçok davranış içten ve dıştan kontrol edilebilir bir karakter gösterir. Bu, hayvana çok yakından etki eden faktörlerle kontrol edilen kişisel davranış örnekleri düşünüldüğünde, bazıları içsel, bazıları dışsal ve bazıları da her ikisinin birleşik etkisiyle ortaya çıkan bir durumdur (Duncan, 1998). Stresin etkilerinin ortaya çıkmasıyla ilgili iki önemli fizyolojik sistem söz konusudur. Bunlardan birincisi "Acil Durum Sendromu" ya da "Kavga veya Kaçma Reaksiyonları" gibi durumları açıklayan Sempatoadrenal sistem (SAS), diğeri ise Hipotalamo-Hipofizeal-Adrenokortikal uyumluluk ile ilgili "Genel Adaptasyon Sendromu (GAS)"dur.

Çok yeni tanımlanmış olan immun sistemin endokrin fonksiyonları da diğer stres etkilerine direkt olarak aracılık edebilmektedir (Mitchell ve Kettlewell 1998). Stresin tanımlanmasında tek yol, stres etkilerine karşı oluşan neuro-endokrin cevapların izlenmesidir ki bunda da hipotalamo-hipofizeal adrenal uyumluluk (HPA)

birincil olarak görevlidir. Bu etki sonucunda adrenal korteks dokusundan glikokortikoidler ve kromaffin hücrelerinden katekolaminler salgılanır. Kortikosteroid salınması ve düzenlenmesi, birtakım hipotalamus faktörlerinin etkileri sonrasında hipofizden ACTH (adrenokortikotropik hormon) salınması ve son olarak da adrenal bezlerden kortikosteroid hormonun salınmasını kapsayan bir dizi olayın başlaması ile ilgilidir (Downing ve Bryden 2002).

Kısa süreli stres etkenleri hayvanlarda tipik olarak dikkatin artması, panik ve uyum sağlama şeklinde kendini gösterir. Bu cevabın yapısını, taşıkardi, solunumun hızlanması, glikoz metabolizmasının hızlanması ve glikokortikoidlerin değişik izomerlerinin plazma düzeylerinin artmasını içeren fizyolojik öğeler oluşturur. Enerjinin korunması için enerji mobilizasyonuna karşı metabolizmada değişiklikler olur. Kronik stres ise fizyolojik olarak, reproduktif döngünün baskılanmasına, akut stresin (HPA) hipotalamik pituiter adrenal eksen cevabının aktivasyonunun kesilmesine, immun cevabın baskılanmasına, büyüme hormonu düzeylerinin ve bunu izleyen dönemde büyüme oranı ve kondisyon kaybına neden olur (Morgan ve ark.,2007).

Evciltmenin binlerce yıldır sürmesine rağmen, entansif olarak yetiştiriciliği yapılan ve doğada serbest olarak yaşayan hayvan sürüleri üzerinde yapılan çalışmalar, hayvan davranışlarının halen atalarına çok benzediğini göstermektedir. Kümes hayvanları ve diğer evcil hayvanlar bugün için bile değişik av hayvanı türlerinde olduğu gibi güçlü bir sezme ve kaçma içgüdüsüne sahip olup nedeni ise korkudur. Korku, hayvanların kendileri için tehlikeli olan durumlardan kaçmaları için onları motive eden önemli bir duygudur. Korku, hayvanda nefret uyandırıcı ve çevresel faktörler tarafından tetiklenen çok güçlü duygusal bir aktivitedir (Rushen ve ark., 1999)

Davranışsal olarak kronik stres; çiftleşme isteğinin azalması, anormal davranışların artması, keşfetme davranışının azalması, davranışsal çekingenliğin artması, dikkatli olma ve saklanma davranışlarının artması, davranışsal karışıklığın azalması, saldırganlığın artması, ürkme ve korkaklığın artması, donakalma

davranışının artması ve cesaretin azalması gibi sonuçlar doğurur. Yukarıda sayılanların hepsi belirli bir ortama kapatılmış hayvanlardaki kronik stresin tanımlanmasında geçmişten beri kullanılan fizyolojik ve davranışsal ölçülerdir (Morgan ve ark.,2007).

Hayvanların hareketlerini kısıtlayan kalabalık ortam, aşırı veya yetersiz ışık (Freeman ve ark.,1983; Jones, 1989), travma, enfeksiyon, aşırı sıcak ve soğuk, hayvanların nakli (Guyton, 1986) açlık, korku ve heyecana neden olan diğer birçok faktör (Beuving ve ark., 1989; Jones, 1987) strese yol açmaktadır. Hemen her tip streste, hipotalamus hipofiz- adrenokortikal sistemin aktivasyonu ile salgılanan glikokortikoidlerin, strese neden olan uyarılara karşı vücudu adapte edici bir görevi olduğu kabul edilir (Beuving ve ark., 1989; Selye, 1973). Harvey ve arkadaşları (1984); hayvanın uzun süre strese maruz kalması veya stres etkisinin şiddetli olması halinde, vücudun adapte edici mekanizmalarının yeterli olamayacağı ve hayvan sağlığı ile yetiştiricilik açısından olumsuz sonuçların ortaya çıkabileceğini savunmuşlardır.

Organizmada iç ve dış ortamdaki değişikliklere karşı birçok savunma mekanizması gelişmiştir. Bu da canlının yaşamını sürdürmesini sağlamaktadır. Normalin dışındaki koşullar da hayvanlarda stres oluşturur ve bu noktada bir takım tepkilerle ortama uyum sağlamaya çalışır. Akut streslere cevap olarak kortizol salınımı artar. Örneğin, operasyon, yanıklar, enfeksiyon, ateş, psikoz, uzun süreli ve ağır egzersizlerde ve hypoglisemi plazma kortizol seviyesini artıran akut stres durumlarıdır (Nagvi ve ark., 1991; Hall ve ark., 1999; Teorien ve ark., 1999).

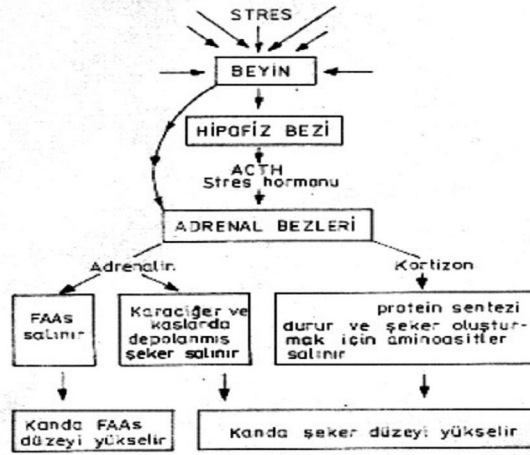
Cannon (1935) homeostasisi, “vücudun hayatta kalmak için gerçekleştirdiği karmaşık süreçler” olarak tanımlamış, daha sonra bu fikri geliştirerek bir hayvanın bir stresöre (stres yaratan faktör) tepki vermesine olanak sağlayan stres tepkisinin bir bileşen olduğunu ve bunun genellikle sempto adrenal yanıt olarak adlandırıldığını belirtmiş ve verilen tepkiyi tanımlamak için “kaç ya da mücadele et” terimini kullanmıştır. Stres esnasında nabız atış hızı ve glikoz seviyesi adrenal medulladan

epinefrin salgılanmasını sağlar, bu da hipotalamustaki nöronları aktif hale getirerek kan basıncı ve yoğunluğunu artırıp kanın hızla kalp ve çizgili kaslara hareket etmesine ve sonunda da hayvanın tehlide karşı kaçma ya da mücadele etme yanıtı vermesini sağlamaktadır. Stres durumlarında basit olarak plazma kortizol düzeyinin, kan basıncının veya nabzın ölçülmesi hayvanın yaşadığı stresin derecesini göstermemekle birlikte, belli türler için bu parametrelerde normalin dışında bir değer gözlemlendiğinde, bu hayvanın stres yaratıcı bir etkene maruz kaldığını ve yorgunluğunu gösterebilir.

Hayvanlarda stres etkenine karşı koyma; stres faktörünün algılanması, stres faktörüne karşı biyolojik savunma ve strese verilen yanıt olmak üzere üç aşamalıdır. Organizma, birçok düzenleyici kontrol sistemine ve değişebilen davranış programlarına sahiptir. Organizmanın adaptasyon mekanizması sayesinde canlı çeşitli etkilere karşı koyabilir veya gerektiğinde uyum sağlayabilir. Ancak adaptasyonu sağlamakla görevli olan mekanizmalar her zaman fizyolojik dengeyi koruyamaz (Akçapınar ve Özbeyaz, 1999). Herhangi bir stres faktörüne verilen yanıt, merkezi sinir sistemi tarafından, uyarıların canlının vücut dengesine potansiyel bir tehdit olarak algılanmasıyla başlar. Başka bir ifadeyle, bir stresörün hayvandaki davranışsal ve fizyolojik etkisi, büyük ölçüde bu faktörlerin birey tarafından nasıl algılandığına ve bireyin davranışsal yanıt biçimine bağlıdır.

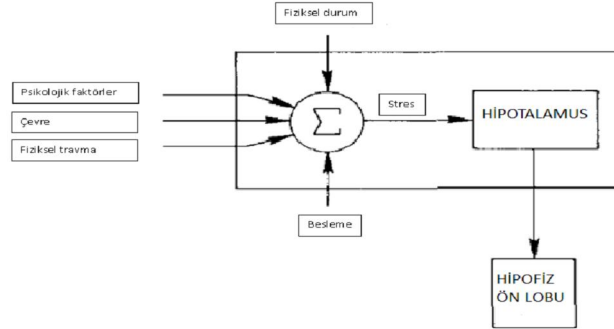
Stres esnasında oluşan fizyolojik değişiklikler ve buna karşı verilen biyolojik savunma ve yanıtlar alarm, adaptasyon ve tükenme devresi olarak üç aşamada incelenebilir. Alarm safhasında merkezi sinir sistemi ile adrenal medulla önemli rol oynar. Stres etmeni organizmada ilk olarak sinirsel-hormonal olaylar serisini başlatır. Bu sinirsel uyarı hipotalamusa ulaşmakta ve sinirsel hormonal faktöre çevrilmiştir. Hipotalamustan salgılanan kortikotropin salgılatıcı faktör (CRF), ön hipofizi uyarmakta, buradan ACTH hormonu salgılanmasına neden olmaktadır. ACTH, kan dolaşımı ile adrenal bezlere ulaşır ve glikokortikoidlerin salgılanmasını artırır. Bu basamakların yeterli düzeye gelmesi belirli bir süre gerektirdiğinden çevredeki stres etmenleri ile karşılaşıldığında vücuttaki ilk cevap, uyumdan çok savaşmak şeklinde olmaktadır. Bu durum bazı araştırmacılar tarafından “kaç ya da

mücadele et” mekanizması olarak adlandırılmaktadır. Bu cevap adrenal medulladan adrenalın veya noradrenalinin ani salınımı ile düzenlenmekte ve enerji üretiminde artma ile sonuçlanmaktadır. Sinir sisteminin uyarılara cevap verebilmesi için enerji üretiminin artırılması gerekmektedir. Nörojenik aminler enerji reaksiyonlarında etkili olan hepatik adenilsiklaz enzimini aktive ederek, karaciğerde glikojenin glikoza dönüşmesini sağlarlar (Siegel, 1985).



(Mengi, 1989)

Şekil 1.



Şekil 2.

(Moberg, 1975)

Stresin alarm devresinde hipokloremi oluşmakta ve kan yoğunluğu artmaktadır. Adrenal medulladan salınan adrenalın ve sempatik sinir uçlarından salınan noradrenalin aracılığı ile de nabız, kan basıncı ve solunum hızı artar, kan şekerinde ise ani bir yükselme görülür (Hill, 1983). Bu hayvanda, stres yanıtı için gerekli olan metabolik ihtiyaçların vücut rezervlerinden hızlı bir şekilde sağlanmasına olanak verir (Cannon, 1935). Alarm reaksiyonlarını ortaya çıkaran

stres etmeninin etkisi uzun sürerse homeostasisi sağlamak ve artan metabolik ihtiyaçları karşılamak için hayvanda üreme fonksiyonlarının baskılanması ve çevre ile doğrudan ilişkisinin azalması ile karakterize edilen diğer safhaya göre daha pasif bir yanıt şekli olan “kendini korumaya alma veya geri çekme” ya da “genel adaptasyon” safhası başlar (Selye, 1956). Bu safhada adrenal korteksten kortikoidlerin salınımı aktif hale gelir. Kortikoidler, katekolaminlerin metabolik etkilerini artırır ve etki süresini uzatır (Koolhaas ve ark., 1985).

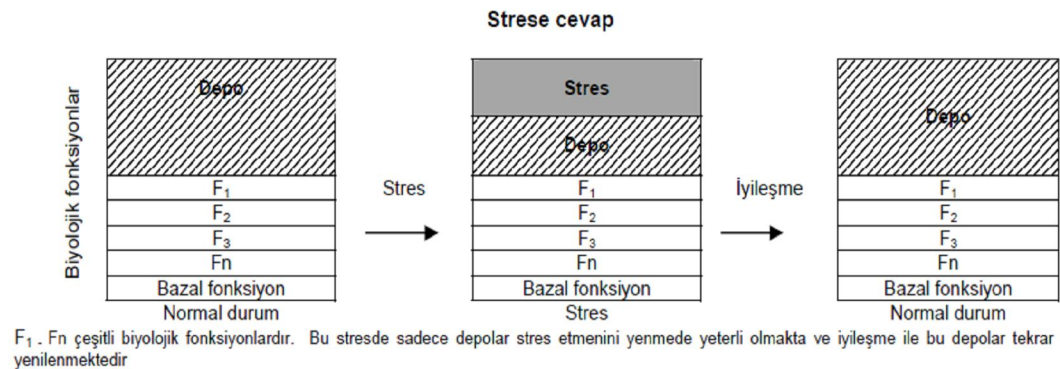
ACTH'nın hipofiz ön lobundan salınımı ile önemli bir steroid olan kortikosteronun üretimi artar, timus, dalak ve periferel lenf düğümleri küçülür, hipofiz lobu büyür ve adrenal bezlerin ağırlıkları artar. Dolaşımda lenfositlerin sayısı azalırken heterofillerin sayısı artar (Siegel, 1985). Adrenal korteks dokusunda oluşan glikokortikoidler; adrenal medullaya geçerek feniletolamin-N-metil transferaz enzimini aktive edip noradrenalinin adrenaline dönüşümünü düzenlerler (Hill, 1983). Adrenal korteksin sürekli uyarılması kortikosteroidlerin dolaşımda sürekli yüksek konsantrasyonda kalmasına yol açarak kardiyovasküler ve gastrointestinal hastalıklar ile hiperkolesterolemi, metabolik bozukluklar ve immunolojik fonksiyonlardaki değişikliklere bağlı olarak yangısal olayları baskılar, lenfositlere bağlı savunma reaksiyonlarını yavaşlatır ve antikor üretimini engeller. Bağışıklık sistemi üzerindeki etkinin büyüklüğü, kalıtsal faktörler ve beslenmeden büyük oranda etkilenir (Siegel, 1985). Glikokortikoidlerin sürekli salınması organizmanın kondüsyonunu olumsuz etkileyerek protein yıkımı, yağlanmanın artması ve hiperglisemi gibi metabolik bozukluklar ile kendini gösterir.

Stres faktörlerine karşı reaksiyon çoğunlukla sempatik sistemin aracılığıyla aktivasyonu ve hipotalamus-hipofiz-adrenal eksen merkezli katekolamin ve glukokortikoid hormonlarının üretimi ile olmaktadır (Miller ve O'Callaghan 2002). Bu hormonlar hayvanlarda organik homeostazı korumak için uyarıyı başlatmakta ve çevresel uyaranlara tepki yeteneği sağlamaktadır. Ayrıca esterleşmemiş yağ asidinde ve (NEFA), lipit mobilizasyon bir artışa neden olmaktadır (McMahon ve ark., 1988 ; Herman ve Cullinan, 1997). Birlikte ele alındığında, bu etkilerin beyin ve kaslar için daha fazla enerji durumu ve böylece strese daha verimli bir davranış yanıtı

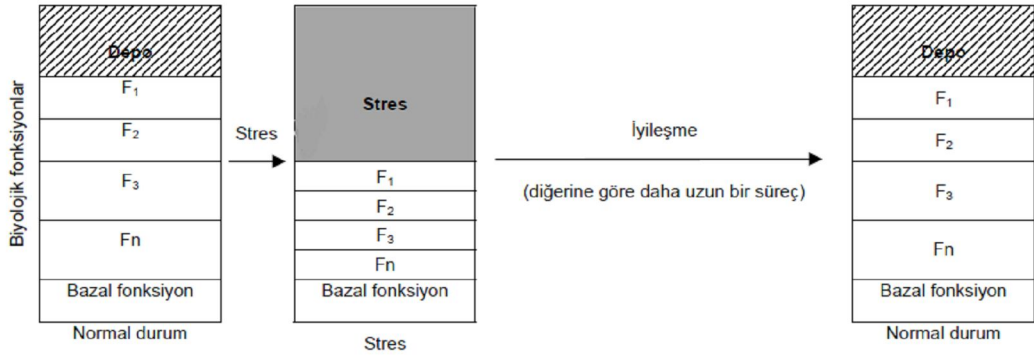
oluşmaktadır. Glukokortikoidler ve katekolaminler ve elektrolitik dengeyi değiştirerek, kan sodyum düzeyinde (Na) artış ve kan potasyum (K) düzeyini düşüşü tetiklemektedir (McDonald, 1975).

Stres etmeninin etkisi devam eder ve bu noktada savunma mekanizmaları da yetersiz kalırsa organizmada son safha olan “tükenme” safhası başlar. Bu durumda görülen adrenal yetersizlik, patolojik değişikliklere neden olur ve sonuçta ölüm gerçekleşir. Bazı durumlarda hayvan genetik yapısı ve önceki deneyimleri sonucunda her iki yanıt tipini de gösterebilir (Mormede ve ark., 1984).

Stres hayvanın vücudunda önce hızlı ve geçici, daha sonra kalıcı ve geri dönüşümü olmayan bazı değişiklikler oluşturur. Bu noktada verim düşüklüğü ve hastalıklara karşı direncin azalması kaçınılmazdır. Hasta hayvanda büyüme ve üreme durma noktasına gelir ve sağlığını korumak için mücadele eder. Vücut bu uyarıcıya karşı oluşabilecek problemleri önleme ve homeostasisi koruma sürecini başlatır, bu süreç allostasis olarak adlandırılır. Allostasis sürecinde başarılı olmak için hem genel hem de özel fizyolojik sistemler ile davranışsal başa çıkma mekanizmaları geniş ölçüde etkinleştirilir. Allostasis sırasında yapılan işin miktarı allostatik yük olarak adlandırılır ve uyarana verilen yanıt hayvana yüklenen maliyeti temsil eder (McEwen, 2000). Eğer allostatik yük büyükse ve sonuçta hayvan yükün getirdiği maliyeti karşılayamıyor ise hayvan refahı tehlikeye düşer.



Şekil 3.



F1 - Fn çeşitli biyolojik fonksiyonlardır. Bu durumda iyileşme dönemi daha uzun sürmektedir

(Moberg, 2000)

Şekil 4.

1.4. Çiftlik Hayvanları Üzerinde Sürü İdaresine Bağlı Olarak Şekillenen Önemli Stres Faktörleri ve Etkileri

1.4.1. Yerleşim sıklığı

Dünyada artan nüfusa paralel olarak gıda ihtiyacının da artması, mevcut kaynaklardan daha yüksek ve kaliteli verim almak için yapılan çalışmalarını daha önemli hale getirmektedir (Rabie ve ark.,1997). Kanatlı hayvan yetiştiriciliğinde birim alana düşen hayvan sayısı işletmenin ekonomik koşullarını ve yetiştirme sistemlerini etkileyen önemli bir faktördür. Bu nedenle yetiştiriciler hayvan başına düşen giderleri azaltmak için yerleşim sıklığını artırmaya çalışırlar. Hangi sistem uygulanırsa uygulansın birim alana düşen hayvan sayısı istenildiği kadar artırılmaz (Halvorsan ve ark., 1991). Yerleşim sıklığı kanatlılarda strese yol açan önemli bir çevresel faktördür. Bu nedenle hayvan yetiştiriciliğinde korku ve strese neden olan yerleşim sıklığı gibi çevre şartlarına karşı uygulanan yetiştirme koşullarının iyileştirilmesi gerekmektedir (Bandyopadhyay ve Ajuja 1990).

Yerleşim sıklığının yüksek olması çevre sıcaklığının artışına, hava akımının azalmasına ve bu sebeple vücut ısısının dışarıya yayılamamasına, havalandırmanın kötü olmasına, amonyağın artmasına, yem ve suya erişimin engellenmesine sebep olarak performansın azalmasına neden olmaktadır (Şimşek ve ark., 2011). Kanatlı

hayvan işletmelerinde birim alanda yetiştirilen hayvan sayısı işletmenin karlılığı açısından oldukça önemlidir. Entansif kanatlı yetiştiriciliğinde, üretim kafes sistemlerinde gerçekleştirilir. Hayvanların kafes sistemlerinde barındırılmasında verim özelliklerini etkileyen çevresel faktörlerden bazıları, kafes özellikleri ve kafes şartlarıyla ilgilidir. Kafes yoğunluğu ya da yerleşim sıklığı kanatlılarda önemli bir stres faktörüdür. Kalabalık ortamlarda barındırma, ya da hayvan başına düşen kafes taban alanının azalması verimi olumsuz yönde etkiler (Oğan., 1995).

Koyun-keçi gibi küçük ruminantlar genellikle toplu olarak barındırılmakta, dolayısıyla kalabalık stresinin oluşmasına bağlı olarak performans ve verimlerinde düşüş görülme riski artmaktadır. Ertaş ve ark., kalabalık stresinin bir, iki, beş ve onarlı gruplar halinde barındırılan 6 aylık yaşta 40 adet erkek tokluda barınak yoğunluğunun yem tüketimi, canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanma üzerine olan etkilerini araştırdığı bir çalışmada barınakta ki hayvan sayısının artmasının toklularda kalabalık stresine neden olduğu ve bunun neticesinde de yem tüketiminin, canlı ağırlık artışının ve yemden yararlanmanın olumsuz etkilendiğini göstermiştir (Dalkılıç ve ark.,2005).

Tsukamoto ve ark. (1994) ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada, kafesteki hayvan sayısının artmasının hayvanlarda çok önemli bir stres faktörü oluşturduğunu bildirmişlerdir. Kalabalık stresi hayvanlarda değişik etkiler meydana getirmektedir (Tsukamoto ve ark. 1994). Ratlar üzerinde yapılan çalışmalarda, kalabalık stresinin ratlarda yem tüketimi ve büyüme hormonu düzeyini düşürdüğü (Armario ve ark., 1987), canlı ağırlık artışını azalttığı (Plaznik ve ark., 1993; Heise ve Acker, 2000), immun sistemi olumsuz yönde etkilediği (Heise ve Acker, 2000), ülserle karşı hayvanları duyarlı kıldığı ve adrenal hipertrofi gerçekleştirdiği bildirilmektedir (Gamallo ve ark., 1986). Yine, kalabalık stresinin hamsterlerin ortalama hayatta kalma sürelerini düşürdüğü bildirilmiştir (Germann ve ark. 1990).

1.4.2. Çevre Sıcaklığı

Hayvancılıktan elde edilen geliri ekonomik düzeye yükseltebilmek için, iklim etmenlerinin hayvancılıkla ilişkisini iyi anlamak ve değerlendirmek gerekir. İklimsel faktörlerin verime etkilerinin yanında; hastalık, bakım ve besleme üzerine de dolaylı etkileri vardır. Bu etkiler, çeşitli hayvan türlerinde ve aynı tür içinde de değişik ırklarda farklı sonuçlar oluştururlar. Dünyanın bazı bölgelerinde bir iklim etmeni aşırı derecede etkili olurken, bazı bölgelerinde ise bu etki sınırlıdır. Bu nedenle, iklim etmenlerinin etkilerinden hayvanları korumak için alınması gereken önlemler farklıdır.

Farklı hayvan türlerinde normal yaşam sınırları altında ve üstünde kalan sıcaklıkların fizyolojik verim, endokrin aktivitesi üzerine olumsuz etkileri konusunda pek çok araştırma yapılmıştır.

Örneğin; aşırı çevresel sıcaklık baskısında kalan türler arası fizyolojik uyum yetenekleri araştırılan çalışmada iki ardışık günde; rektal sıcaklık, soluma ve nabız sayıları ölçülmüştür. İlk gün çevre sıcaklığı ve bağıl nem, sırası ile 42 °C ve % 30; ikinci deneme gününde ise 40 °C ve % 35 olmuştur. Keçilerde ilk gün, rektal sıcaklık, dakikadaki soluma ve nabız sayısı sırası ile 40,1 °C, 71,5 ve 97; koyunlarda ise, yukarıdaki sıra ile 40,0 °C, 63,8 ve 95,1 olmuştur. Aynı ölçütler, yukarıdaki sıra ile ikinci deneme gününde, keçilerde 39,9 °C, 62,8 ve 91,8; koyunlarda ise 40,0 °C, 66,9 ve 94,0 olmuştur. Çevresel sıcaklığın düzeyi keçilerde soluma sayısını etkilemiştir (P< 0,05). Keçilerde hava sıcaklığı, soluma sayısı üzerinde ve yaş ise, nabız sayısı üzerinde önemli düzeyde etkili olmuştur (P<0,05). Koyunlarda genotip, rektal sıcaklık üzerinde önemli bir varyasyon kaynağı oluşturmuştur (P< 0,05) (Demirören ve ark., 2002).

Homeoterm hayvanların optimum verim düzeylerini devam ettirebilmeleri için vücut sıcaklığı ve verimlerini zorlanmadan sürdürebildikleri konfor zonunda barındırılmaları gerekmektedir (West, 2003). Aksi takdirde çiftlik hayvanlarında metabolizma olumsuz yönde etkilenmekte ve fizyolojik verim performanslarının yanı sıra kendilerinden elde edilen ürünlerin kalitesini de düşürmektedir.

Sıcaklık stresi; çevre sıcaklığı, nem, radyasyon, rüzgâr ve yağış miktarı gibi çeşitli iklim faktörlerinin ortak etkisi ile oluşmaktadır (Ravagnolo ve ark. 2000). Örneğin; Bu kriterler bazında sağlıklı süt işletmeciliği yapılmak isteniyorsa süt sığırları için optimum çevre koşulları; orta derecede solar radyasyon, 5-8 km/saat rüzgar hızı, 13-18 °C sıcaklık ve % 60-70 oransal nem olarak nitelendirilebilir. Yine yumurta tavukçuluğunda 21-24 °C, broyler yetiştiriciliğinde 18-21 °C sıcaklık optimum verim için ideal konfor sıcaklıktır.

Stres durumunda kortikosteroid salgılanmasındaki artış sonucu bağışıklık sistemi doğrudan etkilenmektedir. Kortikosteroidler; elektrolit – su dengesi, karbonhidrat, lipit ve protein metabolizması gibi vücut fonksiyonlarını etkilerken, lenf doku aktivasyonundaki azalma nedeniyle bağışıklık sistemi olumsuz yönde etkilemektedir (Quakenbusch, 1999).

Yüksek sıcaklık gibi düşük ısı da hayvanlarda lenfoid organların involusyonuna ve immünolojik fonksiyonların depresyonuna sebep olabilmektedir. Stres hormonları büyüme için yıkıcı etkide olup immün sistemin çalışmasını da engelleyerek hayvanların hastalıklara karşı hassas hale gelmesine neden olurlar (Dönmez ve ark. 2007).

Sıcaklık baskısı ile oluşan stres hayvansal üretim arasında interaksiyon vardır. Sıcaklık baskısının en açık etkisi, hayvanda yem alımını düşürmekte, terlemenin artmasıyla oluşan zorunlu potasyum kaybı ve aşırı soluma ile kan asid seviyesinin değişmesi, mineral metabolizmasını değiştirmekle birlikte (West, 1998), nabız sayısını da arttırmaktadır (Hafez,1969). Koyun ve keçilerde terleme, görece sınırlı

olduğundan, soluma, sıcak baskısının karşılanmasında önemli bir ısı yayma aracıdır ve soluma hızı ile nabız hızı, değişik iklimlere uyumun belirlenmesinde dikkate alınmaktadır (Koluman ve Güney 1994). Örneğin, sıcak baskısında kalan bir koyun, vücudunda üretilen toplam ısının % 56'sı kadarını soluma ile yayar (Hales ve Brown 1974). Böylece hayvan, diğer ısı düzenleme mekanizmalarını da kullanarak kalıcı vücut sıcaklığını normalden yukarıda da olsa dengeler.

Stres durumlarında kortikosteron fazla miktarda üretilir ki bu bir sitotoksik etkidir. Sıcaklık stresi altındaki kanatlıların rasyonlarında yeterli miktarda vitamin C bulunması bu hayvanların sıcaklık stresine karşı koymada daha etkin olduğunu, vitamin C'nin bağışıklık sisteminde ve kortikosteroid hormonu üzerinde dolaylı olarak önemli rol oynadığını ve vitamin C'nin plazma kortikosteron seviyesini ayarlamak suretiyle artan kortikosteron nedeniyle meydana gelen negatif etkileri telafi ettiği, böylece sitotoksik etkileri engellediği bildirilmiştir (Seeman, 1991).

Sıcaklık stresinin etkini araştırmak için 1,5 yaşlı 25 baş sağlıklı, gebe olmayan dişi siyah Bengal keçisi üzerinde 21 gün boyunca yapılan deneysel çalışmada her grupta 5 hayvan olmak üzere denekler 5 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu 25 °C sıcaklık etkisi altında tutulurken diğer deneme grubunda, vitamin C, vitamin E ve Selenyum antioksidan kombinasyonları günde 5 saat % 30 rölatif nem ve 40± 2 °C sıcaklığa maruz bırakılarak keçilerde hemetalojik parametre ve endokrin sistem üzerinde etkisi araştırılmıştır. Rektal sıcaklık ve solunum sayısı günlük olarak kaydedilen çalışmada kanda asit-baz durumu, total antioksidan aktivite ve hormon konsantrasyonunu tahmin etmek için her üç günde bir kan örnekleri alınmıştır. Sonuç olarak; ısı stresi grubunda rektal sıcaklık ve solunum hızlarının (p <0,05) arttığı, antioksidan takviye edilen gruplarda kandaki asit-baz durumunda bir iyileşme kaydedildiği bildirilmiştir. Isı stresi grubunda prolaktin ve kortizol düzeyleri daha yüksek (p<0,05) olduğu, serbest T3 ve T4 düzeylerinin düştüğü (p<0,05), antioksidan takviye edilen gruplarda prolaktin ve kortizol seviyelerinde azalma ve serbest T3 ve T4 hormonlarında artma görüldüğü bildirilmiştir. Farklı düzeylerde antioksidan ve antioksidan kombinasyonları takviyesinin Bengal keçileri

üzerinde ısı stresine karşı benzer bir koruma sağladığı saptanmıştır (Sivakumar ve ark., 2010).

1.4.3. Nakil-Transfer

Çiftlik yönetiminin önemli aktivitelerinden biri olan nakil işlemi de hayvan refahını etkileyen ve hayvanlarda stres yaratan etmenlerden biridir (Giovagnoliva ark., 2002). Taşıma stresi hayvanların homeostazisini ve metabolizmasını değiştirerek verim kayıplarına yol açar, hastalıklara karşı direnci azaltır ve aynı zamanda hayvan refahını olumsuz yönde etkiler. Hayvan stres oluşturan faktörlerle başa çıkabilmek için savunma mekanizmasını devreye sokar. Taşıma sırasında homeostazisi tehlikeye sokan stres faktörleri merkezi sinir sistemi tarafından algılanarak strese karşı fizyolojik yanıt geliştirilir (Cengiz, 2001).

Son yıllarda canlı hayvan ithalat ve ihracatının yaygın hale gelmesiyle taşıma, rutin bir yönetim uygulaması halini almıştır. Hayvanlar pazarlama, besleme ve kesim gibi çeşitli nedenlerle bir yerden başka bir yere demiryolu, denizyolu ve sıklıkla karayolu ile taşınırlar. Hayvan sağlığı ve refahını doğrudan etkileyen taşınma sırasında, yol ve hava durumu, aracın hızı, taşıma süresi, sıkışıklık, hareketsizlik, sosyal hiyerarşi, susuzluk, açlık, dehidrasyon ve yorgunluk gibi birçok faktör hayvanlarda strese neden olur iken (Knowles, 1998) ayrıca hayvan refahı ile karkas ve et kalitesi üzerinde de etkilidir (Karshoğlu ve Koyuncu, 2010).

Stresin şiddetine bağlı olarak salınımı artan stres hormonları hayvanda birtakım fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerde değişikliklere neden olur. (Paull ve ark., 2008) Taşıma sırasında refah ve sağlığı etkileyen en önemli faktörlerden birisi de taşıma süresidir (Grandin 2000). Hayvan refahı acı, ızdırap ve stres gibi istenmeyen duygulardan uzak bir yaşamı hedeflerken (Dantzer, 2001) hayvanlarda strese karşı yanıtın oluşmaması refahın bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Barnett ve Hemsworth 1990).

Hayvan başına ayrılan nakil alanının belirlenmesinde, hayvanlar arası saldırganlık veya birbirlerinin üzerine atlama davranışları da dikkate alınmalıdır. Örneğin sığırlarda alanın azalması ergin erkek sığırlar arasında tehdit, kavga ve yaralama davranışlarının görülmesine neden olabilir. Bu durum hem refahın azalmasına hem de karkasta koyu, sert ve kuru etin oluşmasına neden olmaktadır. Hayvan yoğunluğunun fazla olduğu nakiller sonrasında, karkaslarda ezik bölgelere çok daha fazla rastlandığı ve bu durumun karkas ve et kalitesini olumsuz etkilediğini bildiren çalışmalar bulunmaktadır (Tarrant, 1990).

Nakil süresi mümkün olduğu kadar kısa olmalıdır. Aksi takdirde nakil süresinin uzaması hayvanlarda refahın kötüleşmesine neden olmaktadır. Bu durumdaki hayvanlarda yorgunluk, enerji yetmezliği, hastalıklara duyarlılık ve yeni patojenlerle karşılaşma riskinin artmasına bağlı olarak hastalanma riski de artmaktadır. Ayrıca nakil süresinin uzamasının et kalitesini de olumsuz etkilediği belirtilmektedir (Fernandez ve ark., 1996).

Bunun yanında bazı hayvanlar tür, ırk ve verim yönüne bağlı olarak diğerlerine göre taşımanın yarattığı stresle daha iyi başa çıkabilir (Broom, 2003). Nitekim Yıldız ve Saatçi (2009), büyükbaş hayvanların küçükbaş hayvanlara göre daha uzun mesafelere daha rahat nakledildiğini tespit etmişlerdir. Albright (2000), ise sütçü ırkların nakil sırasında oluşan stresle başa çıkma yeteneğinin etçi ırklara göre daha iyi olduğunu bildirmiştir.

1.4.4. Temas-Muamele-İdare

Çiftlik hayvanlarına taşıma, tedavi, kastrasyon, kuyruk kesimi, kırkım ve performans arttırıcı rutin cerrahi müdahaleler, üreme ile ilgili suni tohumlama sırasında ister istemez elle fiziksel temasta bulunmaktadır. Bu koşullarda insan-hayvan teması bile hayvanlarda olumsuz birtakım etkilerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Mench, 2004).

Hangi hayvan türü ya da işletme sistemi göz önünde tutulursa tutulsun, insanlar ve hayvanlar arasındaki etkileşimler hem refah hem de üretim özelliklerine uyma bakımından önemlilik arz etmektedir. İnsan hareketleri birçok işletme sisteminde sık sık karışıklıklara neden olmaktadır. Bu gibi karışıklıklar üretim ve hayvan refahının düşmesine neden olabilmektedir. Daha küçük hayvan türlerinde insanlar ile temas korku, endişe ve üretim özelliklerinde olumsuz sonuçlara neden olabilmektedir (Hemsworth ve ark., 1994). Basit olarak, artan korku durumu geri çekilme, ses çıkarmama ve hareketsizlik gibi belirtilerin artmasıyla karakterize edilebilmektedir (Jones, 1996).

Son yıllarda sürü idaresinde olmazsa olmazlardan olan rutin işlemler, geleneksel metodların ötesinde daha modern uygulamalarla gerçekleştirilmektedirler. Her iki sistem arasında hayvanların yaşadığı stres farklılığı ortaya koymak için araştırma yapan Yardımcı ve ark (2012); modern sistemlerle yapılan uygulamaların geleneksel metodlarla yapılan uygulamalara göre daha az stres oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Koyunlar korku esnasında; geri çekilme, panik halinde bireysel yâda sürü halinde kaçma, zıplama, sürü halinde bir alana toplanarak yan yana hatta zıplayarak üst üste sıkışma eğilimi göstermekle birlikte dar alanlara saklanma davranışları içersine girmektedir. Örneğin, kümes hayvanlarında kesim öncesi yakalama ve taşıma gibi fiziksel insan teması gerektiren işlemler hayvanlarda strese yol açmakta ve bunun sonucu et kalitesi düşmekle birlikte (Remignon ve ark.,1998) bu reaksiyonlar hayvanlarda panik ve yüzlerce hatta binlercesinin kümesin bir köşesinde kısa bir sürede toplanıp boğulmasına ya da ezilerek ölmesine neden olabilmektedir (Mills ve Faure, 2000). Hayvanlarda insana karşı gelişen korku hayvan refahı ve verimliliğini önemli oranda düşürür. Korku, istenmeyen duygusal durum olarak dikkate alınır ve çok korkmuş hayvanlar kendi kendilerini veya bakıcılarını yaralayabilir (Mench, 2004).

Fidan ve ark (2010), 3-4 yaşlı 6 adet holştayn ırkı dişi sığır üzerinde yaptıkları boynuzsuzlaştırma çalışmasında oksidatif stres parametrelerinde değişikliklere bakmışlar ve kanda MDA ve GSH konsantrasyonları ile Nitrit Oksit (NO), glikoz ve kolesterol ve plasma antioksidan aktiviteyi tespit etmişlerdir. Boynuzsuzlaştırma sonrası oksidatif stres parametrelerinden MDA, NO ve kortizol konsantrasyonlarının yükseldiği, AOA ve GSH konsantrasyonlarında da düşmelerin şekillendiğini bildirmişlerdir. Sonuç olarak boynuzsuzlaştırma işleminin oksidatif stres parametrelerinde meydana getirdiği değişikliklerden dolayı sığırlarda stres yaratan bir işlem olduğunu ortaya koymuşlardır.

Beslemede noksanlık, sosyal karışıklık, yakalama, taşıma, kırkım, cerrahi müdahaleler, koyunların maruz kaldıkları potansiyel stres etkenlerinden birkaçıdır. İnsanlar tarafından kırkım esnasında yapılan yakalama işlemi koyunların refahını ve vucutta yaralanma gibi faktörlerin en önemlisi olabilmektedir. Bu durum hayvan refahını bozduğu gibi aynı zamanda koyun sağlığını tehlikeye düşürerek ekonomik kayıplarla sonuçlanmaktadır. Görsel temas, fiziksel insan teması ve yakalama işlemi sonucu ortaya çıkan korku durumu koyunlarda refahının bozulmasını kolaylaştıran sebeplerdendir. Koyunlarda kırkım için yakalama stres yaratıcı bir etki yapmakla birlikte koyunların yabancı bir çevreye maruz kalması korku ve stres reaksiyonlarının ortaya çıkmasını tetiklemektedir. Elle fiziksel müdahale, sosyal ayrılık, yakalama ve insanlara çok yakın olmayı içeren farklı birtakım unsurları kapsar. Rutin elle temas ve kırkım sırasındaki kırkımcının davranışları, hayvanların huzurunu önemli düzeyde etkilemektedir. Evciltmenin etkilerinden birincisi insana karşı olan korku tepkilerinin düşürülmesi iken çiftlik hayvanları insan yaklaşımlarından hala kaçabilmekte ya da çekinebilmektedir (Hemsworth ve ark., 1994; Jones ve Satterlee,1996). İnsandan uzakta durma isteği farklı türler ve genetik yapılar arasında değişiklik göstermektedir (Mench, 2004)

Çiftlik hayvanları kötü davranışları nedeniyle insanlardan korkmakta ve bu da kortikosteroidlerin bazal yoğunluklarını yükseltmektedir. Aksine, insan ile düzenli bir şekilde olumlu fiziksel temastan hem memeli hem de kanatlı hayvan türlerinin hoşlandığı saptanmıştır (Jones, 1996). Hayvan refahını arttırmak için; özellikle genç

yaştaki hayvanlarla olumlu insan temasının arttırılmasının, elektrikli üvendire gibi kötü uygulamalardan kaçınılmasının, hayvanların barındırıldıkları çevre koşullarının iyileştirilmesinin bakıcı-hayvan etkileşimleri açısından gerekli olduğunu ortaya koymuşlardır. (Rushen ve ark., 1999)

Kırkım işlemi ve yönetimi hayvan refahı açısından stresli bir uygulama olmasına rağmen fizyolojik verime olumlu katkısı vardır. Örneğin etçi tip koyunlarda yapılan kırkım işlemi genç hayvanlarda üreme performansını iyileştirdiği gibi kış mevsimine doğru yapılan kırkımın besi performansı, kuzu doğum ağırlığı, yem tüketiminde artışa etkisi bildirilmiştir (Olafur, 1991; Benjamin ve Patricia, 2004).

Koyunculukta kırkım işlemi dünyada yaygın olarak yılda 1 defa yapılmakla birlikte çok sıcak iklime sahip bölgelerde sıcaklık stresini azaltmak için yılda 2 defa, kuzey Avrupa ülkelerinde ise yapağı kalitesini arttırmak amacıyla ilkbahar ayında ve sonbahar aylarında yılda 2 defa bu işlem gerçekleştirilmektedir. Exrem şartlarda bu işlem sıcaklık stresi ve yapağı kalitesi göz önünde bulundurularak bu uygulama yılda 3 hatta 4 defa gerçekleştirilebilmektedir. Kırkım işleminin koyunculukta hem bakıcı hemde hayvan açısından yorucu ve stresli bir uygulama olmasına rağmen fizyolojik üretim adına kritik bir önemi de bulunmaktadır. Örneğin; yapılan bir çalışmada 100 günlük gebe 46 adet Karayaka koyunlarında kırkımın etkisini araştırmış ve bu dönemsel kritik idarenin; kuzu doğum ağırlığını, kuzuların süttten kesim ağırlığını, kuzuların yaşama gücünü ve ananın laktasyondaki süt verimini arttırdığını atfetmişlerdir (Cam ve ark.,2004).

Kırkım işlemi için hangi yöntem kullanılırsa kullanılsın hayvanlarda kortikoid düzeyleri artış gösterir, bu nedenle hayvanın gösterdiği bu reaksiyon yöntemden ziyade gürültü, sıcaklık ve kırkımı yapan kişi ile temas halinde olmasından kaynaklanmaktadır (Fayed,2001). Kırkım işlemi esnasında kortizol düzeyi hızla artar, kırkım saatinin üzerinden vakit geçtikçe de önemli ölçüde azalır. Ayrıca kırkım işlemine karşı kortizol düzeyinin yükselmesi şeklinde ortaya çıkan stres yanıtı, hayvanın refahını korumak için vücudunun bunu reddettiğinin bir

göstergesi de olabilir (Hargreaves ve Hutson, 1990). Bu yüzden kortizol ölçümleri, kırkım ve nakil gibi çiftlik uygulamaları esnasında ortaya çıkan kısa vadeli stres için yararlı bir göstergedir.

Kırkım stresinde gerçekleşen akut metabolik yanıtlardan birisi de kan NEFA seviyesindeki yükselmedir (Aulie ve ark., 1971; Thompson ve ark., 1982; Russel ve ark., 1985; Astrup ve Nedkvitne, 1988; Symonds ve ark., 1988). Symonds ve ark. (1989) 'nın bildirdiğine göre kırkım esnasında kan NEFA seviyesinin yükselmesi, kırkımın neden olduğu ısı artışına bağlı olarak şekillenen ve depo yağ dokunun hızla okside olmasına bağlı olarak gelişen bir durumdur.

Carcangiu ve ark. (2008) farklı çağ ve cinsiyete sahip Sarda ırkı kuzu, yetişkin dişi ve erkek bireylerde kırkım aşamalarında hayvanlarda büyüme hormonu, kortizol ve bazı kan hematolojik parametrelerin değiştiğini ve bu değişkenliğinin sebebinin de kırkım esnasında oluşan stresten kaynaklandığını belirtmişlerdir.

Kırkım stresi üzerine Fidan ve ark (2009)'ın, 18-24 aylık 18 adet dişi Sakız koyunu üzerinde yaptıkları çalışmada; kırkım işleminden 1 saat önce hayvanların nabız ve solunum sayılarını kayıt altına almışlar, kan örneklerinde de malondialdehit (MDA) ve glutatyon (GSH), plazma kortizol, glukoz ve kolesterol konsantrasyonları yanı sıra plazma toplam antioksidan aktivite (AOA) tayini yapmışlardır. Kırkım sonrasına daha aynı verilerin alınması için aynı işlemler yapılmıştır. Sonuç olarak; kırkım işleminden sonra MDA, GSH ve kortizol konsantrasyonları kırkım işleminin başlangıç değerlerine göre önemli ölçüde arttığı ($P < 0,05$) tespit edilen çalışmada, kırkımın hayvanlarda oksidatif strese yol açtığını ifade etmişlerdir.

1.5. Çiftlik Hayvanlarında Vitamin C ve Humik Asitin Kullanım Alanları

1.5.1. Vitaminin tanımı ve tarihçesi

Vitamin sözcüğü Polonyalı biyokimyacı Casimir Funk tarafından 1912'de kullanılmıştır. Vita Latince, hayat demektir, vitaminler besinlerimizde bulunmadığı zaman, metabolizmada bozukluklara yol açabilirler. Vitaminler vücudun sağlıklı gelişimi, sindirim fonksiyonları, enfeksiyonlara karşı bağışıklık kazanması açısından oldukça gereklidir. Ayrıca vücudumuzun karbonhidrat, yağ ve proteini kullanmasını da sağlarlar. Vitaminler vücutta "yakılmaz", yani vitaminlerden doğrudan enerji (kalori) alınmaz. Vücut, her vitaminden gerekli olan miktarın kan dolaşımında sürekli mevcut olmasını sağlar (Anonim,2009).

Vitaminler, sağlıklı beslenme için küçük miktarlarda alınmaları zorunlu olan, herhangi birinin eksikliği spesifik bir bozukluk ve hastalık meydana getiren organik maddelerdir. Sir James Lancaster, 1601 yılında gemi tayfalarının diyetlerine turuncu meyvelerini eklemiş ve bunun gemiciler arasında oldukça yaygın olan diş etlerinin kanaması, dişlerin düşmesi ve genel durumun bozulmasıyla karakterize bir hastalığa karşı koruyucu etki gösterdiğini bildirmiştir. Takaki, 1882'de diyetlerine et, arpa, meyve eklenmiş Japon gemicilerinde beriberi olarak bilinen hastalığın tedavi edildiğini gözlemiştir.

Hopkins, 1912 yılında süt içermeyen, karbonhidrat, yağ, protein ve tuzlardan ibaret sentetik diyetle beslenen sıçanların normal olarak büyümediklerini; fakat hayvan başına günde 2 mL süt eklemekle büyümenin normale döndüğünü göstermiştir. Benzer şekilde süt eklenmiş diyetle beslenen sıçanların diyetinden sütün çıkarılmasıyla büyümede durma olduğunu görmüştür. Hopkins, bu gözlemlerinden normal büyük besinlere ek olarak sütte hayvanın büyümesi ve yaşaması için gerekli faktör veya faktörlerin bulunduğunu sonucunu çıkarmış; büyüme ve yaşama için gerekli bu faktörlere vitaminler demiştir (Anonim,2009).

1.5.2. C Vitamini (L-Askorbik Asit) ve Kombinasyonları

C vitamini, askorbik asit olarak da bilinir, suda eritilebilen ve birçok görevi olan bir vitamindir. Çoğu hayvanlar ve bitkiler, kendi C vitaminlerini glukozdan üretebilirler. İnsanlar, bazı meyve yarasaları, hint domuzu ve insan benzeri primatlar C vitamini üretemediklerinden bunu besinlerden almak zorundadırlar. Askorbik asit üzerinde ilk bilimsel araştırmalar 1907'de Holst ve Frolich tarafından yapılan deneylerle başlar. Araştırmalarını sürdüren Holst ve Frolich birçok besin maddesinin ve bu arada özellikle yeşil sebze ve meyvelerin skorbüt hastalığını önleyici etkileri olduğunu bulmuşlardır. C. Funk 1912'de skorbüt hastalığının besinlerde bulunan bir faktörün eksikliği sonucu oluştuğu düşüncesini ortaya koymuş ve bu maddeye antiskorbutik vitamin adını vermiştir. Ticari C vitamini genelde askorbik asit kristallerinden veya askorbik asidin kalsiyum veya sodyum tuzlarından oluşmaktadır. Çoğu organizma C vitaminini sentezleyebilmesine rağmen, insanlar dâhil birkaçı onu diyetle almak zorundadırlar. Askorbik asit oksijen tutma özelliğine sahip olması nedeniyle antioksidan olarak kullanılır. Askorbik asit kuvvetli bir indirgeyici ajandır. (Anonim,2013d)

Örneğin; yapılan bir araştırmada; aynı yaşta, eşit ağırlıklı ve sağlıklı 30 adet beyaz leghorn horoz kullanılarak 3 gruba ayrılmış ve yem ve su ad libitum olarak verilen çalışmada her grup ayrı bölmelere yerleştirilmiştir. Kontrol grubu hayvanlarında bir horoz için zemin alanı 40 dm² yer ayrılırken diğer gruplarda ise, bir hayvan için ayrılan zemin alanı 10 dm² alanda tutulmuştur. Deneme boyunca, yemlerine askorbik asit ilave edilmiştir. Yapılan kan analizlerinde kontrol hayvanları dışındaki horozlarda plazma kortikosteron düzeyinin arttığı gözlenmiştir. Stresin bazı kan metabolitleri üzerinde önemli etkisinin olduğu ve askorbik asidin stresin etkilerinin önlenmesinde etkili bir madde olduğunu ifade edilmiştir. (Keçeci ve Kocabatmaz,1995a)

Yine Keçeci ve Kocabatmazın (1995b) yaptığı başka bir çalışmada, aynı yaşta, yaklaşık eşit ağırlıklı ve sağlıklı 50 adet beyaz leghorn horoz kullanarak 5 gruba ayırmıştır. Farklı kümelere yerleştirilen gruplar, kontrol hayvanlarında bir

horoz için zemin alanı 40 dm² alan ayrılırken, diğer gruplarda bir hayvan için ayrılan zemin alanı 10 dm² alan ayırmıştır. Grup Kontrol 1 ve Grup Kontrol 2 hayvanları hariç deneme boyunca, Grup AA'daki hayvanların rasyonlarına askorbik asit ilave edilirken, Grup ASA1 ve Grup ASA2'deki hayvanların rasyonlarına farklı dozlarda asetil salisilik asit ilave edilmiştir. Kontrol grubu dışındaki horozlarda, dolaşımdaki heterofillerin lenfositlere oranı (H/L) arttığı için stresin meydana geldiği, sonuç olarak, kümes hayvanlarında bazı hematolojik parametrelerin stres ile etkilendiği ve stres üzerine askorbik asidin asetil salisilik asitten daha etkili bir madde olduğu ifade etmişlerdir.

Avcı ve ark., (2008) nın yapmış oldukları bir araştırmada nakil işlemine tabi tutulan yaklaşık 1 yaşlı, 12 baş Akkaraman ve 12 baş Merinos ırkı koyunlara vitamin C ve ksilazin uygulanmasının kortizol ve lipid peroksidasyon düzeyleri ile bazı biyokimyasal parametrelere etkisi araştırılmıştır. Her grupta 3 baş Akkaraman ve 3 baş Merinos koyunu olacak şekilde 4 grup oluşturularak tüm hayvanlardan kan alındıktan sonra nakil öncesi kontrol grubuna 1 ml fizyolojik tuzlu su, vitamin C grubuna 500 mg/kg vitamin C, ksilazin grubuna 0,05 mg/kg ksilazin-HCl ,vitamin C + ksilazin grubuna 0,05 mg/kg ksilazin-HCL + 500 mg/kg vitamin C uygulamışlardır. Uygulama sonrası nakil işlemi Konya'dan Afyonkarahisar'a olacak şekilde ortalama 60 km/saat hızla gerçekleştirilerek nakil öncesi ve sonrası alınan kan örneklerinde kortizol, malondialdehit (MDA), glikoz, total kolesterol, trigliserit, total protein, hemoglobin ve hematokrit düzeyleri ölçülmüştür. Aldıkları kan parametrelerinin istatistiki analizleri sonuçlarında nakil öncesine göre nakil sonrası K grubunda kortizol ve MDA düzeylerinde artış (p<0,01) bulunurken, C grubunun kortizol düzeyinde azalma (p<0,01) , nakil sonrası X grubunda kortizol (p<0,001) ve glikoz (p<0,01) düzeylerinde artış bulunurken, total kolesterol (p<0,05) ve trigliserit (p<0,01) düzeylerinde azalma, CX grubunda kortizol (p<0,01) ve glikoz p<0,001) düzeyleri artarken, MDA ve total kolesterol (p<0,05) düzeyleri ile trigliserit (p<0,01) düzeylerinde azalma tespit etmişlerdir. Sonuç olarak; nakil işlemi sonunda vitamin C kan kortizol düzeyini azalttığını ve MDA düzeyini değiştirmediğini; buna karşın, ksilazinin MDA düzeyini değiştirmezken, kortizol düzeyini artırdiğını bildirmişlerdir.

Geçiş dönemdeki ineklerin oksidatif stres parametreleri üzerine enjekteabl bir mineral solüsyonunun (selenyum, bakır, çinko ve mangan içeren bir mineral solusyonu) etkilerini araştırıldığı bir çalışmada; 20 adet Montofon ırkı ileri gebe inek kullanmışlardır. Hayvanlar iki eşit gruba ayrılmış, deney grubuna doğumuna yaklaşık 3 hafta kala tek doz mineral solüsyonu, kontrol grubuna ise aynı dönemde sadece izotonik sodyum klorür solüsyonu uygulanmıştır. Çalışmada malondialdehit (MDA), GSHPx, CAT, vitamin E ve vitamin C gibi oksidatif stres parametreleri yönünden her iki grupta da istatistiksel farklılıklar saptanmış, doğum sonrası dönemde MDA düzeylerindeki azalma ile GSHPx ve CAT düzeylerindeki artış deney grubunda oksidatif stresin azalma eğiliminde olduğunun göstergesi olduğunu ifade etmişlerdir. Sonuçta, özellikle selenyum, bakır, çinko ve mangan içeren bir mineral solusyonunun geçiş döneminin başlangıcında uygulanmasının oksidatif stresi önlemede etkili olabileceği bildirilmiştir (Avcı ve Kızıl, 2012).

1.5.3. Humatlar

1.5.3.1. Humatların kimyasal yapısı ve özellikleri

Humatlar, topraktaki organik maddelerin toprak içerisinde zamanla çürüyüp ayrışmasıyla açığa çıkan karbonhidrat, amino asit ve fenoller gibi bazı maddelerin meydana getirdiği humustan köken alan humik, fulvik, ulmik asitten ve bazı mikro minerallerden meydana gelen (Rung ve ark., 2001) kimyasal özelliklerinden dolayı elektron transferi yapabilen ve bu özellikleri nedeni ile birçok metal iyonu ile şelat oluşturabilen kompleks organik maddeler olarak tanımlanırlar (Anonim,2003).

1.5.3.2.Humat bileşiklerinden Humik asit

Hümik asitler, kısmen veya tamamı ile çürümüş bitki veya hayvan artıklarının oluşturduğu siyah veya koyu kahverenkli maddelerdir. Liebig humusu: “alkali ortamda kolayca çözünebilen, fakat suda çözünmeyen, alkalilerin veya asitlerin aksiyonu ile bitkilerin bozulması boyunca üretilen kahverenkli bir madde” olarak tarif etmiştir. Khristeva humusu “zamanla bozunmaya karşı maddenin ilk hayati durumundan daha dirençli kılan hayvansal ve bitkisel organizmalardan arta kalan transformasyon maddesidir” diye tanımlamıştır. Humus kelimesi bazı toprak bilimcileri tarafından “toprak organik maddesi” şeklinde de kullanılmıştır. Bu anlam topraktaki hümik asitleri içeren tüm organik maddeleri kapsamaktadır. Toprak organik madde kavramı genellikle bitki ve hayvan dokuları, toprak biyokütlesi, hümik maddeler ve canlı organizmalar tarafından sentezlenmiş tüm organik maddeleri içermektedir. Hümik asitler kolloidal maddelerdir ve kil gibi hareket etmektedirler.

Hümik molekülünün kation değişim siteleri hidrojen iyonu ile doldurulduğu zaman oluşan madde “hümik asit” olarak düşünülmektedir. Fakat bunun pH üzerinde büyük etkisi yoktur. Zira, bu asit suda çözünmemektedir. Kation değişim siteleri hidrojen haricinde herhangi bir kation ile doldurulursa bu madde “humat” olarak tarif edilmektedir. Monovalent alkali metallerin humatları suda çözünmektedir. Kristeva hümik asitlerin alkaliler ile işlenmesi ile sodyum ve potasyum humatları elde etmiştir. Fakat multivalent metal humatları, metaline göre suda ya kısmen çözünmekte veya hiç çözünmemektedirler. Kimyasal olarak bulunduğu bölgeye göre çok farklı özellikler gösteren hümik asitlerin moleküler büyüklüğü 2000-300000 Dalton, karbon içeriği % 45-% 65, oksijen içeriği % 30-% 50, kation değişim kapasitesi 500-1500 meq/100 gram olarak tespit edilmiştir. (Anonim,2013a)

Humik maddeleri amino asitli, amino şekerli, peptidli ve aromatik gruplarla bağ kurmuş alifatik bileşikli kompleks aromatik makromoleküller olarak tanımlamaktadır (Tan, 2003). Humik maddeler esnek molekülü, hidrofilik, siyah

veya kahverengi olan yüksek moleküler ağırlığa sahip olan humus parçalarıdır. Humusun elemanlarının çoğu aynı cins, nispeten büyük ve sağlam organik bileşiklerdir.

Humus bileşikleri topraktaki mineral elementlerin şelatlanmasında, anyon-kasyon değişiminde ve su tutma kapasitesinde önemli rol oynarlar. Humik maddelerin temel analizi C=O, CN ve CC gruplarıyla (totalin %35-60'ını oluşturan aromatik gruplar) 4, 5 ve 6 üyeli karbon zincirlerini ve C-C-C-C (yaklaşık olarak totalin % 40-50'sini oluşturan alifatik gruplar) kompleks karbon zincirleri içindeki sülfür, nitrojen, hidrojen, oksijen ve öncelikle karbon bileşiklerini açığa çıkarır. Humik maddelerin aşırı değişken moleküler özellikleri, çevresel şartlar ve kökenindeki bileşiklerle ilişkilidir. Humik maddeler çeşitli çaplarda moleküler elemanlar içerir. Bu elemanların bazı tipleri; alifatik bileşikler, furan halka bileşikleri, laktol, ketal, asetal, benzenin çeşitli bileşimleri, peroksitler, yağlar, kinonlar, karbonlar, eterler, fenoller, esterler, ligninler, polipeptidler, serbest yağ asitleri ve polisakkaritlerdir. (Anonim, 2013c).

Humik maddeler asit ve alkali kısımlarından dolayı proteinlere benzer olarak dipolar iyonik yapıdadırlar. Humik asitler bu yapı sayesinde bazı iyonlarla elektrostatik etkileşim sağlarlar. Humik maddelerin önemli özelliklerinden biri de metal iyonları ile birleşerek oksit ve balçık minareleriyle suda eriyebilir ya da eriyemeyen bileşikler ve kılcak damarları aktive eden maddeler, yağ asitleri ve alkaliler gibi birbirini etkileyen organik bileşikler oluştururlar (Islam ve ark., 2005)

Bitkisel ve hayvansal üretimde çoğunlukla humik maddelerin çözünebilir formları olan sodyum ya da potasyum bileşikleri kullanılmaktadır. Potasyum humatlar, potasyum kaynağı olarak daha çok bitkisel üretimde kullanılırken, hayvansal üretimde hayvanlar için önemli olan sodyum içeriği nedeniyle sodyum humatlar kullanılmaktadır. (Eren ve ark.,2000)

Humik maddelerin hayvanlarda gelişme oranını arttırıp, hastalık riskini azalttığı ve hayvan başına artan yiyecek giderlerini azalttığı için, dünya hayvancılığında hayvan üretiminin ekolojisini ve ekonomisini düzeltmek için yem katkı maddesi olarak kullanımının yaygınlaştığı bildirilmektedir. (Gropp ve ark., 1992)

1.5.3.3.Humik Asitlerin Toksikolojisi ve Güvenliği

Doğal olarak oluşan humik asitlerin toksik özelliği yok denecek kadar azdır. Farelerde LD50değeri 11500 mg/kg ca'dır. Fakat farelerde parenteral yolla ve tavşanlarda 163,5–205,8 mg/kg ca olarak karın zarından verildiği zaman zehirlidirler. Farelerde 30 günlük zehirlilik çalışmalarında 100 mg/kg ca/gün konsantre humik asitin ve onun sodyum tuzlarının oral doz seviyeleri hayvanın hareketlerinde olumsuz bir tavra ve klinik rahatsızlıklara sebebiyet vermemiştir. Aynı sonuçlar köpeklere de 300 mg/kg olarak 90 gün boyunca uygulanarak elde edilmiştir. Konsantre humik asitlerin 90 gün boyunca 1000 mg/kg ca/gün olarak yemle verilmesi ile fare ve tavşanların gastrointestinal bölgesindeki pH değerleri üzerine olumsuz etkisi olmamıştır. Konsantre humik asitin 50–150 mg/ml dozlarda ve sodyum humatın da 500–15000 mg/ml dozlarda kullanılması insan fibroblastındaki veya bebek hamster ve tavşanların böbrek hücrelerindeki ani sapmaların artmasına sebebiyet vermemiştir. Her iki formül de %0,1- %0,5 oranlarında metabolik aktivasyonun hem varlığında hem de yokluğunda Salmonella typhimurium TA98 ve TA100'daki mutajenik harekete neden olmamıştır. Buradan humik asitlerin mutajenik olmadıkları sonucuna varılmaktadır. Humik asitlerin 15 dakika ve 1200 °C ısıtılmasına tabi tutulması mutajenler üzerindeki engelleyici etkilerini değiştirmedikleri rapor edilmiştir (EMEA., 1999).

Kalıntı çalışmalarında domuzlara ağızdan 30 gün boyunca 500 ve 2000 mg/kg ca/gün konsantre humik asit (16:1 oranında) verilmiştir. Aynı karışım koyunlara 1000 ila 2000 mg/kg ca/gün olarak verilmiştir. Çalışmalar neticesinde fotometrik metotla herhangi bir humik asite kan plazmasında, karaciğerde, kaslarda

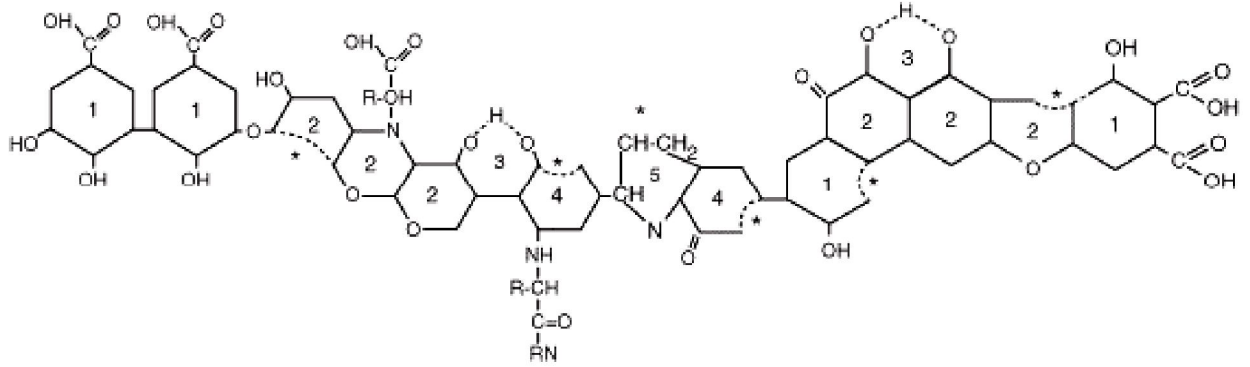
ve böbrekte rastlanmamıştır. Fakat analitik metotların yetersizliği nedeni ile sonuçlar sınırlı bir anlam taşımaktadır. Laub Biochem tarafından yapılan bir başka toksisite çalışmasında toplam güvenlik seviyesi 50 mg/kg ca seviyesine kadar çıkmıştır. Humik asitlerin 20–2000 ppm aralığındaki konsantrasyonlarının oldukça etkili olduğu gözlenmiş ve bu miktarın hiçbir şekilde sitotoksik olmadığı anlaşılmıştır (Laub, 1999).

1.5.3.4. Humik Asitlerin Beşeri Tıp Alanındaki Yeri

Humik maddeler insan sağlığı için potansiyel ilaçlardır. Linyit, turba, mumie, shilajit, gyttja, canlı bitkiler, yosun gibi birçok humik madde kaynağı ilaç sektörü için hazır beklemektedir. Biyoyararlılık bir kaynaktan diğerine değişmektedir. Stabile hale getirilmiş humik maddelerin diyabet, kanser, kalp-damar gibi müzmin hastalıkların tedavisinde kullanımının önemi giderek anlaşılmaktadır. Diğer birçok hastalığın arasında, özellikle HIV–1, HIV–2, HSV–1, HSV–2, HPV gibi viral hastalıkları ve kuş gribi, Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi gibi insanoğlunun hayatını tehdit eden enfeksiyonlu virüsleri bertaraf etmede humik maddeler umut vermektedir. Bunların bazıları, geniş spektrumlu anti-viral, anti-mikrobiyal, anti-bakteriyel ve anti-tümöraktiviteye sahiptir.

“Humik maddelerin adsorplama, absorplama, iyon değişim kapasitesi, redoks özelliği, dağılma veya emülgatör özelliği ve diğer benzer vasıfları sayesinde tıp ilmi ve ilaç sektörünün dikkatini çekmiştir. Humik maddelerin en çok bilinen aktiviteleri anti-viral (Riede, 1993), anti-mikrobiyal (Ansorg, 1978), anti-bakteriyel (Cronje, 1991), anti-oksidan (Avvakumova, 2011), anti-inflammatuar (Rensburg, 2004; Lown, 2006), anti-klastojenik (Ferrara, 2006), anti-tümör (Kodama,2007), anti-kariyojenik ve anti-periodontitic (Habilov LL, 1971), anti-toksin (Laub, 1999), anti-ülserojenik (Ghosal, 1988;Goel, 1990), anti-artritik ve anti-romatizmal (Iubitskaia, 1999) anti-anjiyogenez (Krzeminski,2005; Strelis, 1989), anti-piretik (Golz–Berner, 2006), anti-radikal (Yudina, 2011), anti-mutajenik (Sato, 1986, 1987a, 1987b), analjezik (Salz, 1974)– kanda heparin benzeri etki (Laub, 1999), östrojen benzeri etki (Jansen, 1996), bağışıklık sistemi düzenleyici (Ghosal, 1990; Inglot,1993), tiroidal

(Huang,1994), kan şekeri düzenleyici (Meena, 2010), böbrek taşı bertarafı (Schepetkin, 2002) gibi etkilerdir. Bu etkileri yapısındaki polifenol (Manach, 2005), kuinon (Koyama, 2006) ve polikarboksilik gruplar (Thiel, 1981) ile sağladığı bilinmektedir”. (Dizman ve ark., 2012) Humik maddelerin farklı hayvan türlerinde yapılan deneme çalışmalarında literatürler de etkilerinden bahsedilmiştir.



Model structure of humic acid (Stevenson)

Humik Asit Molekülü

Şekil 6.

1.5.3.5. Humik Asitlerin Vetetiner Tıp ve Ziraat Alanındaki Yeri

Tıp alanında İnsan sağlığına etkisi kanıtlanan humik asitin vetetiner tıp ve ziraat alanında farklı türde hayvanlar üzerinde stres ve performans üzerine etkileri araştırılmış ve farklı bakış açılarıyla etkileyici veriler elde edilmiştir.

Örneğin; Hollanda da organik süt sığırcılığı yapılan bir işletmede hayvanların rasyonlarına bir yem takviyesi olarak hümik asitlerin ilavesi ile hayvanlarda genel verimliliğini arttığı belirlenmiştir. Çalışma farklı yaşta 40 hayvan üzerinde yürütülmüş ve her grupta 10 hayvan olmak üzere 4 grup oluşturulmuş. 1.grup kontrol, 2.gruba 2 gram HA / gün, 3.gruba 3 gram/ HA gün ve 4.gruba 4 gram HA / gün olmak üzere 60 gün süresince beslenmiştir. Her 2 hafta da bir FPCM süt (yağ ve protein düzeltilmiş süt verimi, yağ ve protein üretim seviyeleri kaydedilmiştir. Deneme grupları % 20 humik asit içeren Lithicin TM isimli ticari ürün ile beslenilmiştir. İlk aydan itibaren, rasyonunda HA olan gruplarda üretim

seviyelerinde protein veriminde hafif bir düşüklük görülmesine rağmen süt ve yağ veriminde artış gözlenmiş rasyona 2 ve 3 gram HA / gün katılması en uygun doz olduğu belirtilmiştir (Tomassen ve Faust, 1999).

Saanen keçileri üzerinde yapılan bir araştırmada, hayvanlar hümkik asit içeren diyetler ile beslenmiş ve kan ve süt kompozisyonlarının bazı farklı düzeylerde etkisi araştırılmıştır. 2 yaşlı ve 52 kg canlı ağırlığa sahip 18 adet Saanen keçisi 1 kontrol grubu ve 2 deneme grubu olarak toplam 3 gruba ayrılmıştır. 21 gün süre ile keçiler 0 g kg-1 hümkik asit (T1), 1 g kg-1 hümkik asit (T2) ve 3 g kg-1 hümkik asit (T3) içeren diyetle beslenen hayvanlardan kan ve süt örnekleri alınmıştır. Toplam DM alımı değerleri T1,T2,T3 sırasıyla 1,73; 1,74 ve 1,79 kg gün bulunarak T3 grubu T1 grubuna göre çok daha yüksek olduğu belirlenmiştir (p <0,05). Süt verimi sırasıyla 2,11 kg; 2,37 kg ve 2,45 kg gün bulunarak T3 grubu T1 grubuna göre çok daha yüksek olduğu saptanmıştır (p <0,05). Ancak, hümkik asit süt yağı, yağsız süt katı, süt proteini ve laktoz içeriğinde düzelme gerçekleşmemiştir. Hümkik asit uygulaması T1,T2,T3, kandaki toplam kolesterol değerleri sırasıyla; 124,1 mg dL-1 ; 100,8 mg dL-1 ve 102,2 mg dL-1 (p<0,05) bulunarak önemli ölçüde azalma olmuş ve kan serumunun T1,T2,T3 gruplarının LDL kolesterol düzeyleri sırasıyla 23,49 mg dL-1 ; 15,14 mg dL-1 ve 16,19 mg dL-1, (p <0,05) bulunarak önemli ölçüde azalma yaşandığını ifade etmiştir. (Değirmencioğlu, 2012)

Hümkik asit insan bağışıklık sistemini desteklemektedir. UCI Tıp Fakültesi bir immünoloji doktoru Daryl See, metabolizma bünyesinde humatların şekerler arasında kompleks bir mekanizma yeteneği olduğunu söylemiştir. Şeker fazlalığı sayesinde bu kompleksli mekanizma vücut hücreleri arasında bir modülatörü ya da iletişim bağlantısı olarak hareket eden glikoprotein üretimine olanak sağladığı gibi glikoproteinlerin katil T hücresine bağlanmasına neden olur. Bu dengesiz hale gelen bağışıklık sistemi hücrelerini düzenler ve T veya katil hücrelerini de önlediğini söylemiştir. (Anonim,2013b)

Bu aynı doğrultuda, mağduriyet ve istenmeyen enfeksiyon sonucu oluşan radyasyon hastalığı organlarda ölü hücrelerin oluşmasına ve bağışıklık sistemini

uyarır. Humik asitlerin böylece enfeksiyonu azaltarak bağışıklık sisteminde ölü hücreleri tanınmasına neden olur. Baylor Tıp Fakültesi şu anda humikasitler üzerinde yanık tedavisinde topikal ve dâhili enfeksiyonları azaltmak için hemde doz araştırmaları yapmaktadır. Hatta Rus bilim adamları radyasyon hastalığı tedavisi için aynı prensibi kullanmaktadır. Radyasyonun öldürücü dozlarına maruz kalan melez farelerin ömrünü artırmak için humik asit içerikli sodyum humat ve kobaltın etkili olduğunu tespit etmişlerdir.(Anonim,2013b)

Literatür çalışmalarında humik asitin hayvanlarda stresi engellemek ve strese neden olan hormonların üretimini azalttığı bildirilmektedir. Bu durum açık alana çıkan buzağuların davranışlarından gözlemlenmiştir. Humik asitle beslenen çiftlik hayvanları kalabalık stresi ve kısıtlı alanlardan daha az etkilendiği ve bu etkinin koyun, at, sığır ve domuzlar üzerinde görülmüştür. Süt sığırlarında humik asitle beslenen deneme grubu hayvanlarında yemleme esnasında daha uysal olduğu fakat kontrol grubunun daha agrasif olduğu bildirilmektedir. (Anonim,2013b)

Penn State Üniversitesi Laboratuvar testlerinde fiziksel yapay strese maruz tutulan farelerde stres hormonları ölçülmüştür. Humik asitle beslenen deneme grubunda kontrol grubuna göre daha az stres hormonu salgılandığı saptanmıştır. (Anonim,2013b)

Örneğin; Yüksek stoklama yoğunluğuna maruz kalarak sosyal stres oluşan yumurta tavukları üzerinde humat ve organik asit destekli diyetin anti-stres etkisini belirlemek amacıyla yapılan başka bir çalışmada kahverengi yumurtacı 100 adet tavuk 287,7 cm² (yüksek yoğunluklu) ve 500 cm² (düşük yoğunluklu) iki farklı stoklama yoğunluklarında tutulmuştur. Kontrol grubu için, 16 tavuk rastgele seçilerek eşit sayıda 4 gruba ayrılarak düşük yoğunlukta tutulmuş ve bazal diyetle beslenmiştir. Geri kalan 84 tavuk rasgele eşit miktarda 3 gruba ayrılmış ve yine eşit sayıda hayvan olacak şekilde 4 adet alt grup oluşturulmuş ve yüksek yoğunlukta yerleştirilmiştir. 60 gün boyunca kontrol grubu bazal diyetle, Humat grubu için diyet ve ilave % 0,15 humat ile organik asit grubuna da bazal diyet ve % 0,20 organik asit

ilave edilerek beslemeye tabii tutulmuştur. Söz konusu araştırmada humik asit ve organik asitin lenfosit sayısında önemli düzeyde artış gözlenirken heterofil ve heterofil: lenfosit oranında düşüş saptanmıştır. Bu sonuçlara göre araştırmacılar humik asit muamelesinin sosyal strese karşı güçlü bir anti-stres etkisi gösterdiğini, yüksek yoğunluklu kümeslerde sosyal stresin zararlı etkilerini en aza indirmede humik asit takviyesinin, immun tepkiyi geliştirmede alternatif olabileceğini ifade etmişlerdir (Çetin ve ark., 2011).

Humik maddelerin su ürünleri yetiştiriciliğinde en önemli sorunlardan kabul edilen stres ve hastalık unsurlarının etkisinin azaltılması ya da oluşumunun engellenmesi ve bunun yanında büyüme performansına olumlu tesir göstererek karlılığın artırılmasını sağlamak için çalışmalar kısıtlıda olsa ciddi bulgular elde edilmiştir. Balık yumurta ve larvalarının koruyucu tedavisi yoluyla kuluçka verimini artırma; büyüme ve yem alımını iyileştirme; kültürün kondisyon, hastalığa dayanıklılık ve direnç, sağlıklı kalma, yaşama gücünde iyileştirme; terapötik ilaç yoluyla ektoparazit bulaşan balıklarda daha hızlı iyileşme; ikincil enfeksiyonların bastırılması; profilaktik uygulama yoluyla birincil enfeksiyon salgınlarının inhibisyonu; sudaki zararlı metallerin ve kimyasalları toksinsizleştirme gibi olumlu etkiler gösterdiği bildirilmektedir (Anonymous, 2011). Humik maddelerin bu özellikleri irdelendiğinde su ürünleri yetiştiriciliğinde alternatif doğal yem katkı maddesi olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Humik asit bireylerin fizyolojik durumunu artırabilmekte ve stresin yol açtığı fizyolojik ve histolojik sonuçların olumsuzluğunu azaltabilmektedir. Bakteri ve parazit gibi birkaç balık patojenlerin sebebiyet verdiği hasarlar humik asit mevcudiyeti ile daha hızlı bir şekilde tamir edilebilmektedir. Bazı parazitler, özellikle mantarlar, humik asit tarafından doğrudan etkilenmektedir. Ayrıca balıklarda hasarlara neden olan stresin tedavisinde farklı üstünlükler sergilemektedir. Akuatik sistemlerde ya da akuakültürde humik asitin ekofizyolojik ilişkisi belirgin bir şekilde olmaktadır (Meinelt ve ark., 2008).

Bitkisel üretimde humik asit ve diğer humus bileşiklerinin toprak kimyasındaki artışı toprakta yer alan faydalı mikroorganizmaların faaliyetini arttırarak çoğalmasında sağlamakla beraber bitki gelişimini de hızlandırmaktadır. Bu yaklaşımın baz alınmasıyla 4 adet 1,5 yaşlı morkaraman koçunun kullanıldığı bir araştırma planlanarak, diyetlerine 0;0,1;0,2 ve 0,4 olacak şekilde humik asit katılmış ve oluşturulan biri kontrol, 3 deneme grubu 20 gün süre ile beslemeye tabi tutulmuştur. Humik asitin rumen protozoa popülasyonuna etkisinin araştırıldığı çalışmada, rasyona konulan farklı dozlarda humik asit bileşiklerinin kontrol ve deneme grupları arasında rumen protozoa sayısı açısından önemli bir etkisinin olmadığı, kan örneklerinde yapılan analizler sonucunda ise humik asitlerin tüm düzeylerinin kan serumu kolesterol ve LDL (düşük yoğunluklu lipoprotein) düzeyini düşürdüğü ($P<0,05$), HDL (yüksek yoğunluklu lipoprotein) düzeyini ise özellikle % 0,2 ve % 0,4 humik asit içeren gruplarda önemli ($P<0,05$) derecede artırdığı bildirilmiştir (Tunç, 2012).

Farklı hayvan türlerindeki çalışmalarda stresin; kalp atım sayısında (Kent ve Ewbank, 1986), adrenal kortikal aktivitede (Ruiz-de-la-Torre ve ark 2001) ve enfeksiyonlara bağlı olarak gelişen mortalite ve morbiditede artışa neden olduğu bildirilmektedir. Ayrıca stresin canlı yaşamı ve verimliliğini etkileyen hücrelerdeki lipid peroksidasyonu, protein denaturasyonu ve DNA mutasyonları gibi olumsuzluklara yol açabildiği ve et kalitesinde düşmeye yol açtığı belirtilmektedir (Peeters ve ark, 2005; Chirase ve ark 2004). Evcil hayvanlarda stresin fizyolojik ve biyokimyasal etkilerini hafifletmek amacıyla adrenerjik agonist ya da antagonist sedatifler, dopamin, opioidler, merkezi sinir sistemi (MSS) depresantları, hormonal etkili ilaçlar, vitaminler, mineraller ve amino asitler yaygın olarak kullanılmaktadır (Ali ve Al-Qarawi 2002; Ali ve ark, 2006).

Normal koşullarda canlı organizmaların, serbest oksijen radikallerini metabolize edebilen enzimatik (süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve glutatyon redüktaz gibi) ve nonenzimatik (A ve E vitamini, glutatyon, beta-karoten, ürik asit gibi) antioksidan savunma sistemleri vardır. SOD,

süperoksit anyonlarının (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2)'e çevrilmesinde bir katalist olarak fonksiyon yaparken, oluşan H_2O_2 , CAT ve GSH-Px enzimleri tarafından elimine edilir. Ayrıca GSH-Px enzimi diğer uzun zincirli peroksitlerin inhibisyonunda da görev alır (Halliwell ve Gutteridge 1989)

Biyolojik sistemlerde elektron alıcı moleküller serbest radikaller olarak adlandırılırlar (Valko ve ark 2006). Serbest radikallerin aktif oksijen türevlerine de oksidanlar denir. Oksidanlar hedef moleküllerden elektron alma yetenekleri nedeniyle, bu hedef molekülün yapısını ve fonksiyonlarını değiştirerek hücre zarını, DNA, RNA gibi genetik materyali ve değişik enzimatik olayları etkileyerek hücre hasarlarına yol açtığı bilinmektedir. Bu oksidanlar canlı organizmalarda sitoplazmik, mitokondriyel ve ekstrasellüler formları olan süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) ve katalaz (CAT) gibi antioksidan enzim sistemleri ile seruloplazmin, transferrin, indirgenmiş glutatyon (GSH), askorbik asit (vitamin C) ve alfatokoferol gibi antioksidanlar tarafından yıkılırlar (Valko ve ark 2007).

Biyomembranlar ve hücre içi organeller membran fosfolipitlerindeki doymamış yağ asitlerinin olması nedeniyle oksidanların saldırılarına duyarlıdırlar. Lipid peroksidasyonun en önemli ürünlerinden olan malondialdehit (MDA), hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur (Mercan, 2004). Oksidatif stres, genelde lipid peroksidasyon son ürünü olan MDA; oksidatif DNA hasar göstergesi olan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG); protein oksidasyonu; SOD, GPx, CAT, glutatyon-S-transferaz (GST), glutatyon redüktaz (GR) gibi antioksidan enzimler; alfa-tokoferol, askorbik asit, glutatyon, ubikinon, sistein gibi antioksidanların ölçümü ile belirlenir (Eken, 2012).

Bu araştırma; Pırlak ırkı dişi toklulara oral yol ile verilen Vit C ve Humik asitin kırkım stresi üzerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla tasarlanmış ve çalışmada fiziksel ve oksidatif stres parametrelerinin tespitine yönelik bazı ölçümler yapıp, sonuçlar değerlendirilmiştir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Hayvan Materyali

Araştırmada hayvan materyali olarak; Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvancılık Araştırma ve Uygulama Merkezinde yetiştirilen 16 aylık yaşta ortalama 35 kg canlı ağırlıkta, sağılıklı 45 baş dişi pırlak toklu kullanılmıştır.

2.1.2. Deneme sahası

Toklular, KÜHAM'da, araştırma öncesinde de barındırıldıkları kapalı bir alan içerisinde barınmaya devam etmişler ve aynı evre şartlarına ve bakım besleme programına tabi tutulmuşlardır.

2.1.3. Yem Materyali

Araştırmada günlük olarak merkezin rutin yemleme programı kapsamında sabah ve akşam saatlerinde olmak üzere günde 2 defa yemleme uygulanmış olup kaba yem olarak kuru yonca ve saman verilirken, hayvan başına 200 gr kesif yem takviyesi de yapılmıştır.

2.2. YÖNTEM

2.2.1. İzotonik Sodyum Klorür Süspansiyonu, Vitamin C ve Humik Asit

Rutin yemleme dışında araştırmanın kırkım öncesi 14 günlük deneme süresince, ağız yolu ile, her bir gruptaki toklulara aşağıda açıklamaları yapılmış olan Vit C, Humik asit ve İzotonik Sodyum Klorür verilmiştir.

2.2.1.1.İzotonik Sodyum Klorür Süspansiyonu

% 0,9 izotonik sodyum klorür süspansiyonu, ilimizde ticari olarak çalışan yerel bir veteriner kliniğinden temin edilmiştir. Gruplar arasında herhangi bir uygulama farklılığının olmaması için çalışmada kontrol grubuna da diğer deneme gruplarına benzer stresin yaşatılması için herhangi bir etkisi olmayacağı düşüncesi ile bu solüsyon verilmiştir.

2.2.1.2. Vitamin C

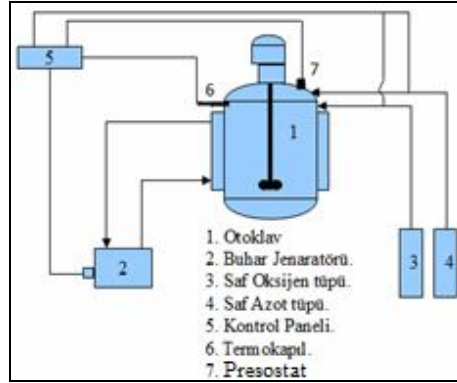
Askorvet (VETAŞ firması, 1 g Vit C) ticari isimli oral çözelti tozu ilimizde ticari olarak çalışan yerel bir Veteriner kliniğinden temin edilmiştir. Hergün oda sıcaklığındaki % 0,9 izotonik sodyum klorür sıvısı içerisinde *Ascorvet* toz çözündürülerek %20 Vit C içeren süspansiyon hazırlanmıştır.

2.2.1.3.Humik asit

Humik asit süspansiyonu (bitkisel orjinli, bir kısım protein ve karbonhidratın yanında makro, mikro ve iz elementleri ihtiva eden %15'lik humik asit süspansiyon) Kocaeli ilinde faaliyet gösteren Oluşum Kimya Ziraat San. Tic. A. Şti firmasından temin edilmiştir.

Kullanılan Humik asidin elde ediliş şekli ve içeriği aşağıda gösterilmiştir.

Afşin-Elbistan termik santralinden alınan ve öğütülerek elenen leonardite cevheri (gidya) tartılarak şekildeki otoklava konulmuştur.



Şekil 7.

Cevherin üzerine 1 M NaOH çözeltisinden eklenip ve bir gece boyunca 90 devir/dakikada karıştırılmıştır. Ertesi gün çözelti santrifüj dekantörden geçirilmiştir. Çözeltiye ait birinci süzüntüler koruyucu bir kap içerisinde birleştirilerek saklanmıştır. Ekstraksiyon için aynı işlem 2 kez daha tekrar edilerek hümik ve fulvik asit ekstraksiyonu ile humin madde çökeleği birbirlerinden ayrıştırılmışlardır. Çözeltiye ait çökelmeyen süzüntüler daha öncekilerle birleştirilmiştir. Bu süzüntüler hümik ve fulvik asitlerin karışımını içerirken çökelti kısmı humini ifade etmektedir. Aşağıdaki tabloda bu ekstraksiyon sonucu ortaya çıkan ürünün içeriği görülmektedir.

Analiz Parametreleri	Birim	Metodlar	Analiz sonucu
pH (22 °C)	--	01:10	9,0–11,0
Yoğunluk	Kg/L		1,12
Toplam Humik Madde	(%)	TS 5869 ISO 5073	15
Toplam Azot	(%)	Bremner 1965	0,05
Toplam P	(%)	ICP-AES	0,015
Toplam Si	(%)	ICP-AES	1,36
Toplam Se	mg/kg	ICP-AES	0,15
Toplam Ca	(%)	ICP-AES	1,26
Toplam Mg	(%)	ICP-AES	0,014
Toplam Fe	(%)	ICP-AES	0,056
Toplam Mo	mg/kg	ICP-AES	89,5
Toplam Zn	mg/kg	ICP-AES	31,13
Toplam Na	(%)	ICP-AES	1,79
Klor Cl	(%)	Titrimetrik	İz
Enerji	kcal/100 g	FAO Food and Nutrition Paep 77	34,5
Protein	g/100 g	AOAC/NMKL 6	0,45
Yağ	g/100 g	NMKL 160	Tespit edilemedi
Karbonhidrat	g/100 g	FAO Food and Nutrition Paep 77	8,1

2.2.2. Çalışma Planı

Çalışma; Haziran ayı içerisinde gerçekleştirilmiştir.

I. Aşama: Araştırma gruplarının oluşturulması:

Araştırmada rast gele seçilen 15 er baş toklunun yer aldığı 3 farklı deneme grubu oluşturulmuştur. Bu deneme gruplarının ilki kontrol grubu, ikincisi Vit C grubu üçüncüsü ise Humik asit grubu olarak isimlendirilmiştir. Her bir grupta yer alan toklular 3 farklı renkte (kırmızı, yeşil, sarı) spray boya ile başları ve sırtları boyanarak dış bakıda ayırt edilebilmeleri sağlanmıştır. Her bir toklunun kulak numaraları gruplara göre kaydedilmiştir.

II. Aşama: Her bir deneme grubuna 14 gün süre ile günde bir kez, sabah saatlerinde (09.00) enjektör yardımı ve oral yol ile ;

- a. Kontrol grubu: 10 cc lik, % 0,9 izotonik sodyum klorür süspansiyonu (fizyolojik tuzlu su)
- b. Vit C grubu: 10 cc lik, % 20'lik Vitamin C süspansiyonu
- c. Humik asit grubu: 10 cc lik, % 15'lik Humik asit süspansiyonu

toklulara tüketirilmişdir. Uygulama prosedürü aşağıdaki gibidir;

Gruplar	n	Uygulama prosedürü
Kontrol	15	10 cc, fizyolojik tuzlu su (oral)
Vit C	15	10 cc, %20 lik Vit C (oral)
Humik asit	15	10 cc, %15 lik Humik asit (oral)

III. Aşama: 14. gün sonunda sabah saatlerinde son uygulama yapılmış ve kırkım hazırlıklarına başlanmıştır. Barınak içerisinde hazırlanan düzenekte tüm toklular bir araya toplanmış ve gruplar arasında müdahale süresinin oluşturacağı farklılıklarının önüne geçebilmek için her bir toklu, hangi grupta bulunduğu bakılmaksızın işleme alınmıştır. Fizyolojik stres parametreleri ve biyokimyasal stres parametrelerine bakılması amaçlanan bu çalışmada fizyolojik stres parametrelerinin tespiti için;

- a. Vücut ısısı
- b. Nabız
- c. Solunum sayısı değerleri ölçülmüş,

Biyokimyasal stres parametreleri için ise;

- a. Vena jugularisten kan alımı yapılmıştır.

Yukarıda bahsi geçen tüm ölçümler kırkım öncesi ve kırkım sonrası olmak üzere 2 kez tespit edilmiştir.

Araştırmada ölçüm süresini kısaltmak üzere her bir parametre için bir şahıs görevlendirilmiş ve uygulamada ortaya çıkacak farklılığın önüne geçebilmek adına

da kırkım öncesi ve kırkım sonrası aynı şahıslar görevli oldukları parametreler üzerinde ölçüm tespitinde bulunmuşlardır.

İki kişi tarafından sabitlenen her bir tokludan kırkım öncesi ve kırkım sonrası (20 dakika sonra, kronometre ile süre tespit edilmiştir) ölçülen parametreler ve ölçüm teknikleri şöyledir;

Fizyolojik stres parametreleri:

Vücut ısısı: Dijital termometre yardımı ile rektal ısı tespiti yapılmıştır.

Nabız: Tamburlu steteskop ile kalp üzerinden dakikada ki nabız sayısı ölçülmüştür.

Solunum sayısı: 1 dakika boyunca açlık çukurluğunun hareketlerinden gözlem yolu ile solunum sayısı tespit edilmiştir.

Alınan kan numunelerinden ise biyokimyasal stres parametreleri olarak aşağıdaki değerlere bakılmıştır.

Kortizol

NEFA (Non Esterified Fatty Acid (Esterleşmemiş Yağ Asidi-Serbest yağ Asidi)

MDA (Malondialdehyde)

GSH (Reduced Glutathione)

TAS (Total Antioksidan Aktivite)

2.2.2.1.Biyokimyasal Stres Parametrelerin Ölçümünde Kullanılan Yöntemler

Plazma-Eritrosit Süspansiyonu

Kan numuneleri EDTA-K3içeren tüplere alındı ve 3000 rpm 'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası üstte kalan plazma ependorf tüplerine alınıp analiz edilinceye kadar -20°C'de saklandı. Ardından eritrositler % 0,9 'luk NaCl solusyonu ile 3 defa yıkandı. Her yıkama sonrası 3000 rpm 'de 10 'ar dakika santrifüj edildi. Her santrifüj sonrası süpernatant aspire edilerek atıldı. Hazırlanan eritrosit paketi ependorf tüplerine alınıp analiz edilinceye kadar -20°C'de saklandı. Plazmadan MDA ve TAS düzeyleri çalışıldı.

Hemolizat Hemoglobin Tayini:

Prensip: Drapkin çözeltisinde bulunan ferrisiyanür Hb 'deki +2 değerlikli demiri(ferro= Fe^{+2}) +3 değerlikli demire (Ferrik= Fe^{+3}) çevirerek methemoglobine dönüştürür. Sonra potasyum siyanür ile birleşerek stabil bir molekül olan siyanmethemoglobin meydana gelir. Siyanmethemoglobinin 540 nm 'de ölçülen absorbanı hemoglobin ile doğru orantılıdır.

Drapkin Reaktifi:

- ◆ Sodyum bikarbonat($NaHCO_3$) %1
- ◆ Potasyum ferrisiyanür($K_3Fe(CN)_6$)%0,2
- ◆ Potasyum siyanür (KCN) %0.05
- ◆ Distile Su 200 ml
- ◆ Buzlu Su 1000 ml

Prosedür

Hazırlanan hemolizattan 10 µl bir tüpe alındı. Üzerine drapkin reaktifinden 3 ml eklendi ve tüpler iyice çalkalanıp 15 dakika oda ısısında bekletildi. Standart olarak kontrol kanı, kör olarak drapkin çözeltisi kullanılarak tüm örnekler 540 nm dalga boyunda ölçüldü.

2.2.2.1.1. GSH (Reduced Glutathione) Ölçümü

GSH aktivitesi Cayman marka Glutasyon ELISA Ölçüm kiti kullanılarak ölçüldü (Cayman Chemical Company, USA). Absorbans okuması Trinity Biotech Captia Reader cihazında yapıldı. (Trinity Biotech PLC, Bray CO. Wicklow, IRELAND). Sonuçlar ölçülen hemoglobin düzeyleriyle oranlanarak nmol/g hgb olarak verildi.

2.2.2.1.2. MDA (Malondialdehyde) Ölçümü

MDA ölçümü için OxisResearch marka ticari MDA ticari ELISA kiti kullanıldı (OxisResearch, CA, USA). Absorbans okuması Trinity Biotech Captia Reader cihazında yapıldı. (Trinity Biotech PLC, Bray CO. Wicklow, IRELAND). Sonuçlar uM olarak verildi.

2.2.2.1.3. TAS (Total Antioksidan Aktivite) Ölçümü

Total Antioksidan aktivitesi Cayman marka Antioksidan ELISA Ölçüm kiti kullanılarak ölçüldü (Cayman Chemical Company, USA). Absorbans okuması Trinity Biotech Captia Reader cihazında yapıldı. (Trinity Biotech PLC, Bray CO. Wicklow, IRELAND). Sonuçlar mM olarak verildi.

2.2.2.1.4. KORTİZOL Ölçümü

Kortizol analizi; Multiscan 1500, Labysystems” marka spektrofotometre cihazı ile ticari kit (Bovine Cortisol ELISA Kit, Cusabio Biotech Co., Kat.No: CSB-E130648) kullanılarak, ölçümler yapılmıştır

2.2.2.1.5. NEFA (Non Esterified Fatty Acid (Esterleşmemiş Yağ Asidi-Serbest Yağ Asidi)

NEFA analizi için; “Multiscan 1500, Labysystems” marka spektrofotometre cihazı ile ticari kit (Randox Laboratories Ltd, UK, Kat. No: FA 115) kullanılarak, ölçümler yapılmıştır. Tüm kan analizleri; Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Laboratuarlarında gerçekleştirilmiştir.

2.2.2.2. İstatistik Analizler

Araştırmada elde edilen tüm veriler, SPSS 14.0 paket programı (SPSS 14.00 for Windows, SPSS INC., C hicago, IL, USA) ile değerlendirilmiştir. Her bir değişkene ilişkintanımlayıcı istatistikler aritmetik ortalama ve standart hata geğerleri hesaplanarak verilmiştir. Gruplar içi kırkım öncesi ve sonrası farklılıkların değerlendirilmesinde iki eř veya ilişkili ölçümler için t testi (paired samples t test) kullanılmıştır. Gruplar arasında karşılaştırmada tek yönlü varyans analizi (Oneway ANOVA) kullanılmıştır. Gruplar içi veya arasında farklılıkların çıkması durumunda ise çoklu karşılaştırma testlerinden Duncan testi kullanılmıştır.

3. BULGULAR

Tüm deneme gruplarına ait kırkım öncesi ve kırkım sonrası ölçülen fizyolojik ve biyokimyasal stres parametrelerinin ortalama değerleri Tablo 1 ve 2 de, bu değerlere ait genel karşılaştırma ise Tablo 3 de gösterilmiştir. Denemedeki tüm tokluların kırkım sonrası rektal ısı ($P<0,01$), nabız ($P<0,001$), solunum sayısı ($P<0,01$), GSH ($P<0,05$), Kortizol ($P<0,01$) ve NEFA ($P<0,001$) değerleri yükselmiş, MDA ($P<0,05$) seviyesi düşmüş, TAS seviyesi ise değişmemiştir. Yükselen rektal ısı, nabız ve solunum sayısının yanında kortizol seviyesinin de hızla artmış olması kırkımın hem fizyolojik hem de biyokimyasal olarak ciddi bir stres kaynağı olduğunu göstermektedir. NEFA; vücutta depo adipoz dokunun mobilize olmaya başladığında kan dolaşımına geçen ilk halidir ve lipolizisin önemli bir göstergesidir. Kırkım sonrasında Kortizol ile birlikte kan NEFA seviyesi de önemli düzeyde artmıştır. Bu bulgu, stres anında Adenokortikoidlerin etkisi ile yağın yıkımlandığı bilgisini pekiştirmektedir.

Kırkım öncesi ve sonrası stres parametrelerindeki değişim oranı Tablo 4, gösterilmiştir. Elde edilen veriler doğrultusunda en yüksek değişim % 170,50 ile Kortizol de olur iken en düşük değişim % 0,301 ile Rektal ısıda gerçekleşmiştir. Tüm faktörlerin pozitif değişim gösterdiği tablo da sadece MDA değeri % 5,87 ile azalış sergilemiştir.

Kırkım öncesi ve sonrasında grup içi ve arasında değerlendirilen rektal ısı, nabız ve solunum sayısı sırası ile Tablo 5, 6 ve 7 de gösterilmiştir. Kırkım sonrası rektal ısı Vit C grubunda bir miktar yükselmiş olmasına rağmen ($P<0,05$), bu değer fizyolojik sınırlar arasında kalmış ve gruplar arasında bir farklılık görülmemiştir. Kırkım sonrası nabız sayısı tüm gruplarda grup içinde anlamlı bir şekilde yükselmiş olup ($P<0,001$) gruplar arasında ise bir fark oluşmamıştır. Kırkım sonrası solunum değeri ise hem grup içerisinde ($P<0,001$) hem de gruplar arasında ($P<0,05$) önemli bir düzeyde yükselmiş, solunum sayısı Humik asit grubunda, Kontrol grubuna göre daha yüksek ($P<0,05$) bulunmuştur. Fizyolojik stres parametrelerine bakarak elde

edilen sonuçlar göstermektedir ki kırkım işlemi tüm gruplarda ciddi düzeyde bir stres oluşturmuş ancak solunum sayısı haricinde diğer rektal ısı ve nabız sayısı parametrelerinde ise bu stres düzeyinin gruplar arasında önemli bir farklılık oluşturmadığı tespit edilmiştir.

Tablo 8, 9, 10 ve 11 de sırası ile Biyokimyasal stres parametreleri olarak ölçülen kırkım öncesi ve sonrası GSH, MDA, Kortizol, NEFA ve TAS değerleri verilmiştir. Kırkım öncesi ve kırkım sonrası GSH değerleri açısından gruplar arasında herhangi bir farklılık tespit edilememiştir. Ancak grup içi karşılaştırmalarda GSH değeri bütün gruplarda rakamsal olarak artış göstermekle birlikte özellikle Kontrol grubundaki artış diğer gruplardan yüksek ($P<0,05$) düzeyde farklı bulunmuştur. Kontrol grubundaki GSH değişimindeki bu farklılığın diğer gruplarda gözlenmemesi Vit C ve Humik asit süspansiyonlarının özellikle oksidatif stres üzerinde etkili olabileceğini akla getirmektedir.

MDA parametresinin değerlendirilmesinde; Gruplararası karşılaştırmada kırkım öncesi grup değerleri arasında bir farklılık gözlenmez iken, kırkım sonrası MDA değişiminin oldukça önemli ($P<0,001$) olduğu görülmektedir. Bu değer bakımından grup içi karşılaştırmada ise Vit C ve Humik asit gruplarında kırkım sonrası bir miktar sayısal düşüş gözlemlenirken, Kontrol grubunda ise tam tersi bir olay şekillenmiş ve bir miktar sayısal artış tespit edilmiştir. Gözlemlenen bu artış ve azalmalar incelendiğinde ise sadece Vit C grubundaki kırkım sonrası rakamsal azalmanın istatistiksel bir önem ($P<0,001$) arzettiği görülmektedir. Bu durum Vit C nin önemli bir antioksidan özelliğe sahip olduğunun da bir göstergesidir.

Kortizol değerleri incelendiğinde ise, kırkım stresine bağlı olarak kırkım sonrası tüm gruplarda bariz şekilde kortizol seviyelerinde artış gözlemlenmiştir ($P<0,05$, $P<0,01$). Özellikle Vit C grubunda diğer gruplara oranla kırkım sonrası Kortizol miktar artışı daha da önemli ($P<0,01$) bulunmuştur. Gruplar arasında ise bu parametre açısından bir farklılık gözlenmemiştir.

Kırkım öncesi ve kırkım sonrası NEFA değerleri incelendiğinde gruplar arasında bir farklılığın olmadığı görölmektedir. Bununla birlikte, grup içi değerlendirmede ise tüm gruplarda kırkım sonrası NEFA düzeylerinde sayısal artış gözlenmiş ancak Kontrol ve Humik asit gruplarında bu artışın istatistiki öneme sahip olduğu $P<0,01$), Vit C grubunda ise önemli bir farklılığın bulunmadığı tespit edilmiştir.

Çalışmada elde edilen bulgulara göre TAS değerleri açısından grup içi ve gruplar arasında önemli bir değişikliğe rastlanmamıştır.

Tablo 1. Kırkım öncesi tüm gruplarda fizyolojik ve biyokimyasal stres ölçüm parametre değerleri

KIRKIM ÖNCESİ									
Stres Ölçüm Parametreleri	Kontrol Grubu (n:15)			Vitamin C Grubu (n:15)			Humik Asit Grubu (n:15)		
	X±Se	Min	Max	X±Se	Min	Max	X±Se	Min	Max
Fizyolojik parametreler									
Rektal ısı (°C)	39,76±0,06	39,30	40,20	39,73±0,11	39,20	41,00	39,87±0,15	39,10	41,60
Nabız (vuruş/dakika)	78,53±1,41	69,00	88,00	77,80±1,61	66,00	91,00	78,73±1,61	65,00	87,00
Solunum (devir/dakika)	29,00±1,88	20,00	44,00	32,93±1,37	24,00	41,00	35,26±2,01	20,00	47,00
Biyokimyasal parametreler									
GSH (nmol/g hgb)	23,38±1,12	16,01	31,47	29,06±1,93	18,70	47,66	24,44±2,12	9,70	48,08
MDA (uM)	10,29±0,56	7,35	14,94	10,92±0,50	7,27	13,84	11,02±0,41	8,65	13,55
KORTİZOL (ng/mL)	162,69±26,97	58,17	436,05	121,41±20,86	6,63	300,68	145,42±21,45	41,04	347,28
NEFA (mmol/l)	0,1732±0,03	0,04	0,55	0,1454±0,02	0,00	0,43	0,1883±0,04	0,03	0,60
TAS (mM)	0,1988±0,001	0,19	0,21	0,1951±0,001	0,18	0,21	0,1964±0,001	0,18	0,21

GSH: Reduced Glutathione

MDA: Malondialdehyde

NEFA: Non Esterified Fatty Acid (Esterleşmemiş Yağ Asidi-Serbest Yağ Asidi)

TAS: Total Antioksidan Aktivite

Tablo 2. Kırkım sonrası tüm gruplarda fizyolojik ve biyokimyasal stres ölçüm parametre değerleri.

KIRKIM SONRASI									
Stres Ölçüm Parametreleri	Kontrol Grubu (n:15)			Vitamin C Grubu (n:15)			Humik Asit Grubu (n:15)		
	X±Se	Min	Max	X±Se	Min	Max	X±Se	Min	Max
Fizyolojik parametreler									
Rektal ısı (°C)	39,87±0,08	39,40	40,50	39,92±0,11	39,00	40,90	39,93±0,12	39,00	41,10
Nabız (vuruş/dakika)	104,60±1,84	92,00	117,00	102,33±1,73	88,00	113,00	104,07±1,98	87,00	116,00
Solunum (devir/dakika)	48,60±3,12	34,00	74,00	55,06±2,36	38,00	68,00	59,46±3,37	34,00	79,00
Biyokimyasal parametreler									
GSH(nmol/g hgb)	28,16±2,11	13,94	48,27	30,09±1,47	22,79	43,23	26,58±1,81	14,70	39,74
MDA (uM)	10,37±0,34	7,27	12,49	9,13±0,38	7,18	12,45	10,84±0,49	7,59	14,57
KORTİZOL (ng/mL)	366,54±76,71	77,16	970,81	450,11±88,51	28,31	964,73	345,17±78,05	40,61	989,12
NEFA(mmol/l)	0,2475±0,04	0,04	0,64	0,1921±0,03	0,02	0,51	0,2818±0,06	0,07	0,84
TAS (mM)	0,1984±0,006	0,18	0,29	0,1943±0,003	0,18	0,23	0,2046±0,007	0,18	0,28

GSH: Redükde glutatyon

MDA: Malondialdehid

NEFA: Non Esterified Fatty Acid (Esterleşmemiş Yağ Asidi-Serbest Yağ Asidi)

TAS: Total Antioksidan Statü

Tablo 3. Tüm grupların kırkım öncesi ve sonrası stres ölçüm parametrelerinin ortalama değerleri

Stres Ölçüm Parametreleri	Kırkım Öncesi n:45	Kırkım Sonrası n:45	P
	X±Sx	X±Sx	
Fizyolojik parametreler			
Rektal ısı (°C)	39,78±0,06	39,90±0,61	0,009**
Nabız (vuruş/dakika)	78,35±0,87	103,66±1,05	0,000***
Solunum (devir/dakika)	32,40±1,07	54,37±1,81	0,000***
Biyokimyasal parametreler			
GSH (nmol/g hgb)	25,62±1,06	28,28±1,04	0,012**
MDA (uM)	10,74±0,28	10,11±0,25	0,030*
Kortizol (ng/mL)	143,17±13,36	387,27±46,34	0,000***
NEFA (mmol/l)	0,1689±0,02	0,2404±0,02	0,000***
TAS (mM)	0,1967±0,001	0,1991±0,003	0,572

Tablo 4. Stres ölçüm parametrelerinde kırkım öncesi ve sonrası parametre değerlerinde değişim oranı

Stres Ölçüm Parametreleri	Değişim Oranı* (%100) n:45
Fizyolojik parametreler	
Rektal ısı (°C)	0,301
Nabız (vuruş/dakika)	32,30
Solunum (devir/dakika)	67,80
Biyokimyasal Parametreler	
GSH (nmol/g hgb)	10,38
MDA (uM)	-5,87
KORTİZOL (ng/mL)	170,50
NEFA (mmol/l)	42,33
TAS (mM)	1,22

*Değişim oranı: 100 x (Kırkım sonrası ortalama-Kırkım öncesi ortalama)/Kırkım öncesi ortalama

Tablo 5. Kırkım öncesi ve kırkım sonrası rektal ısı (°C) değerlerinin grup içi ve gruplar arasında karşılaştırılması

GRUPLAR	Kırkım Öncesi (n:15)	Kırkım Sonrası (n:15)	P
	X±Sx	X±Sx	
Kontrol	39,76±0,06	39,87±0,08	0,080
Vit. C	39,73±0,11	39,92±0,11	0,026*
Humik asit	39,87±0,15	39,93±0,12	0,560
P	0,647	0,931	

P<0,05*

Tablo 6. Kırkım öncesi ve kırkım sonrası nabız değerlerinin (vuruş/dakika) grup içi ve gruplar arasında karşılaştırılması

GRUPLAR	Kırkım Öncesi (n:15)	Kırkım Sonrası (n:15)	P
	X±Sx	X±Sx	
Kontrol	78,53±1,41	104,60±1,84	0,000***
Vit.C	77,80±1,61	102,33±1,73	0,000***
Humik asit	78,73±1,61	104,07±1,98	0,000***
P	0,905	0,669	

P<0,001***

Tablo 7. Kırkım öncesi ve kırkım sonrası solunum değerlerinin (devir/dakika) grup içi ve gruplar arasında karşılaştırılması

GRUPLAR	Kırkım Öncesi (n:15)	Kırkım Sonrası (n:15)	P
	X±Sx	X±Sx	
Kontrol	29,00±1,88 ^a	48,60±3,12 ^a	0,000***
Vit.C	32,93±1,37 ^{ab}	55,06±2,36 ^{ab}	0,000***
Humik asit	35,26±2,01 ^b	59,46±3,37 ^b	0,000***
P	0,052*	0,045*	

P<0,05* P<0,001***

Tablo 8. Kırkım öncesi ve kırkım sonrası GSH (nmol/g hgb) değerlerinin grup içi ve gruplar arasında karşılaştırılması

GRUPLAR	Kırkım Öncesi (n:15)	Kırkım Sonrası (n:15)	P
	X±Sx	X±Sx	
Kontrol	23,38±1,12	28,16±2,11	0,021*
Vit.C	29,06±1,93	30,09±1,47	0,453
Humik asit	24,44±2,12	26,58±1,81	0,306
P	0,065	0,398	

GSH: Reduced Glutathione

P<0,05*

Tablo 9. Kırkım öncesi ve kırkım sonrası MDA (uM) değerlerinin grup içi ve gruplar arasında karşılaştırılması

GRUPLAR	Kırkım Öncesi (n:15)	Kırkım Sonrası (n:15)	P
	X±Sx	X±Sx	
Kontrol	10,29±0,56	10,37±0,34 ^b	0,898
Vit.C	10,92±0,50	9,13±0,38 ^a	0,001**
Humik asit	11,02±0,41	10,84±0,49 ^b	0,602
P	0,535	0,016*	

MDA: Malondialdehyde

P<0,05* P<0,001***

Tablo 10. Kırkım öncesi ve kırkım sonrası Kortizol (ng/mL) değerlerinin gruplar içi ve arasında karşılaştırılması

GRUPLAR	Kırkım Öncesi (n:15)	Kırkım Sonrası (n:15)	P
	X±Sx	X±Sx	
Kontrol	162,69±26,97	366,54±76,71	0,017*
Vit. C	121,41±20,86	450,11±88,51	0,002**
Humik asit	145,42±21,45	345,17±78,05	0,021*
P	0,459	0,631	

P<0,05* P<0,01**

Tablo 11. Kırkım öncesi ve kırkım sonrası NEFA (mmol/l) değerlerinin gruplar içi ve arasında karşılaştırılması

GRUPLAR	Kırkım Öncesi (n:15)	Kırkım Sonrası (n:15)	P
	X±Sx	X±Sx	
Kontrol	0,1732±0,03	0,2475±0,04	0,002**
Vit. C	0,1454±0,02	0,1921±0,03	0,261
Humik asit	0,1883±0,04	0,2818±0,06	0,002**
P	0,704	0,404	

NEFA: Non Esterified Fatty Acid (Esterleşmemiş Yağ Asidi-Serbest yağ Asidi)

P<0,01**

Tablo 12. Kırkım öncesi ve kırkım sonrası TAS (mM) değerlerinin grup içi ve gruplar arasında karşılaştırılması

GRUPLAR	Kırkım Öncesi (n:15)	Kırkım Sonrası (n:15)	P
	X±Sx	X±Sx	
Kontrol	0,1988±0,001	0,1984±0,006	0,960
Vit. C	0,1951±0,001	0,1943±0,003	0,860
Humik asit	0,1964±0,001	0,2046±0,007	0,365
P	0,350	0,501	

TAS: Total Antioksidan Aktivite

4. TARTIŞMA

Yapılan araştırmada; yükselen rektal ısı, nabız ve solunum sayısının yanı sıra kortizol seviyesinin de hızla artmış olması kırıkmın hem fizyolojik hem de biyokimyasal olarak ciddi bir stres kaynağı olduğunu göstermektedir. Kırıkım uygulamasının yarattığı stresin göstergesi olarak ölçülen fiziksel ve biyokimyasal parametrelerden GSH, MDA, Kortizol, NEFA ve TAS parametreleri arasında TAS dışında tüm değerler stresin varlığını desteklemiştir. Bu durum hormonal ve oksidan/antioksidan sistemlerin mekanizmaları ile açıklanabilir. Özellikle akut stres durumlarında hormonal sistem, stres faktörüne karşı vücudun korunması için hızla uyarılır. Karşılaşılan çevresel rahatsızlık durumunu takiben öncelikli stres önleyici hormon olarak Kortikosteroidlerdeki hızlı yükseliş, kronik stresten sakınılmasını sağlar (Wingfield and Kitaysky, 2002). Kırıkım işleminin koyunlar üzerinde stres oluşturduğu bulgusu bir çok araştırmacı tarafından da desteklenmiştir (Grandin, 1998; Dwyer and Bornett, 2004; Fitzpatrick et al., 2006, Fidan ve ark., 2009). Kırıkım işlemi hayvanları strese sokan bir işlem olup, hangi yöntem kullanılırsa kullanılsın hayvanlarda kortikoid düzeylerinde artışa neden olmaktadır (Fidan ve ark, 2009; Fidan ve ark, 2010, Yardımcı ve ark, 2012). Bu nedenle hayvanın gösterdiği bu reaksiyon yöntemden ziyade gürültü, sıcaklık ve kırıkmı yapan kişi ile temas halinde olmasından kaynaklanmaktadır (Fayed, 2001; Pawelek ve Croney, 2003).

Çalışmada, kırıkım faaliyeti sonrasında tüm gruplarda kalp ve solunum sayılarında artış şekillenmiş olup, bu durum çevresel stres faktörlerinden etkilenen veya el ile müdahale edilen hayvanlarda benzer sonuçlara ulaşmış bazı araştırmacılar tarafından da desteklenmektedir (Srikandakumar et al., 2003; Marai et al., 2007, Fidan ve ark, 2009, Yardımcı ve ark, 2012). Nitekim tüm gruplarda kırıkım öncesi ve kırıkım sonrası solunum sayısı % 67,80 artış gösterirken, nabız %32,30 oranında artış göstermiştir. Deneme grupları açısından değerlendirme yapıldığında ise Rektal ısı değişimi bakımından gruplar arasında farklılık gözlenmez iken yine gruplar içinde de ne rektal ısı ne de nabız ve solunum sayısı bakımından farklılık gözlenmemektedir.

Stresi ölçmede en büyük sorun strese karşı verilen cevapta hayvanlar arasında görülen varyasyondur (Moberg, 1985). Strese karşı oluşan cevap, daha önceki deneyim (Moberg, 1985; Mason ve ark. 1991), genetik faktörler (Marple ve ark., 1972), yaş (Blecha ve ark., 1983), sosyal ilişki (Henry, 1992) ve insan-hayvan etkileşimi gibi (Hemsworth ve ark., 1981) birçok faktör tarafından etkilenir.

Stresin yol açtığı olumsuz etkilere karşı homeostazisin sürdürülmesi organizmanın gösterdiği otonom, hormonal, metabolik ve immunolojik yanıtlara bağlı olup aerobik organizmalarda normal oksijen metabolizması sonucu açığa çıkan serbest oksijen radikalleri yarı ömürleri çok kısa olmasına rağmen, son derece reaktif olan ve dış orbitalinde tek sayıda elektron bulunduran atom ya da moleküllerdir (Akkuş, 1995). Yüksek reaktivitelerine bağlı olarak serbest radikallerin direk olarak ölçümlerinin oldukça zor olması (Joreno 1990) ve en önemli hedeflerinin membran fosfolipidleri olması nedeniyle, oksidatif hasarın belirlenmesinde lipid peroksidasyonu önemli parametrelerdendir (Katz ve ark, 1996). Serbest radikallerin meydana getirdiği lipid peroksidasyonu ise membran fosfolipidleri tamamen okside oluncaya kadar devam etmekte ve membran geçirgenliğinin artmasına bağlı olarak hücrenin iyon dengesi bozulmaktadır. Bu durum, biyokimyasal moleküller ile hormonların girişine aracılık eden membrana bağlı yüzey reseptörlerinin aktivasyonlarını kaybetmelerine neden olmaktadır (Carr ve ark, 1993; Katz ve ark, 1996). Bu nedenle, malondialdehit gibi tiyobarbitürik asit reaktifleri, konjuge dienler ve lipid hidroperoksitlerinin ölçümü, oksidatif stresin hücrelerde yol açtığı hasarın belirlenmesinde yaygın kullanıldığı Carr ve ark, (1993) tarafından da bildirilmektedir.

Hayvanlar üzerinde sürü yönetimi gereği gerçekleştirilen ve hayvana teması gerektiren muameleler, korku nedeni ile strese yol açmakta ve hayvanın performansı ve sağlığı üzerinde olumsuz etkilere neden olmaktadır. Hayvanlar üzerinde elle muamele, kısıtlama veya mevcut şartlarda meydana gelen değişiklikler psikolojik strese yol açarken, açlık, susuzluk, yaralanma, yorgunluk veya ekstrem ısı

değişiklikleri gibi fizyolojik sebepler de stres oluşturabilmektedir (Grandin 1997). Araştırmada, MDA düzeylerine bakıldığında kırkım öncesi Vitamin C uygulanmış grupta MDA değerinin diğer gruplara göre daha düşük ve istatistiksel anlamda da önemli bulunması, vitamin C'nin vermiş olduğu hidrojen atomu ile peroksit radikallerini zararsız hale dönüştürdüğüne ve böylece lipid peroksidasyonunu önlediğine (Wefers ve Sies, 1983; Chan 1993) bağlanabilir. Bu bulgu diğer araştırmacıların elde ettiği verilerle de benzerlik arz etmektedir (Avcı ve ark, 2009).

Stres, hayvanın çevresel reseptörlerle etkileşimi sonucu verdiği kümülatif yanıt olup (Fowler, 1995), strese yol açan durumlar; hipotalamo-hipofizer-adrenal aksinin uyarılmasına bağlı olarak plazma ACTH ve kortizol salınımını 10 katına kadar artırabilmekte (Ali ve ark 2006; Kay ve ark1985) ve strese bağlı olarak kanda düzeyi artan kortizol gibi kan glikokortikoidleri ise hayvanlarda çevresel değişimlere gösterilen tepkinin iyi bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Rijnberk ve Mol 1997, Fazio ve ark., 2005). Bu araştırmada; plazma kortizol düzeylerinde kırkım sonrası tüm gruplarda tespit edilen artış, hipotalamo-hipofizeradrenokortikal aksis ve sempato-adrenal medullar aksinin uyarıldığına işaret etmekte olup, kırkım sırasında oluşan stresin varlığını göstermektedir. Bu bulgu bazı araştırmacıların bulguları ile de örtüşmektedir (Minton, 1994; Rijnberk ve Mol 1997; Carcangiu ve ark., 2007) Çalışmada, kırkım öncesi ve sonrası değerler karşılaştırıldığında, kırkım sonrası bütün gruplarda nabız sayısı, solunum sayısı ve kanda kortizol düzeyinin önemli ($P<0,001$, $P<0,001$, $P<0,05$) ölçüde yükseldiği görülmektedir (Tablo 6,7,10). Stres anında kanda kortizol seviyesinin yükseldiği birçok araştırmacı tarafından bildirilmektedir (Chrousos ve Gold, 1992; Desborough, 2000; Roy ve ark., 2001; Junghanss ve ark., 2003). Dolayısıyla çalışmadaki bütün hayvanlarda kırkım sonrasında kan kortizol seviyesinin önemli düzeyde yükselmesi bize kırkımın önemli bir stres faktörü olduğunu bir defa daha göstermektedir. Gruplar arası kortizol düzey karşılaştırıldığında istatistiksel olarak bütün gruplarda kırkım öncesi ve sonrası kortizol seviyesinin benzer olduğu görülmektedir. Ancak kırkım öncesinde sayısal olarak en düşük kortizol seviyesine sahip olan Vit.C grubunun kırkım sonrasında sayısal olarak en yüksek düzeye sahip olduğu görülmektedir. Kanda NEFA düzeyinin kırkım sonrasında kontrol ve humik asit gruplarında önemli düzeyde ($P<0,01$) vitamin C

grubunda ise sayısal olarak yükseldiği ($P>0,05$) belirlenmiştir. NEFA depo yağların mobilize olduğunda kan dolaşımına geçtiği tek formdur. Bu nedenle kanda NEFA düzeyinin yükselmesi depo yağların hızla yıkılmaya başladığının (lipolizis) önemli bir göstergesidir (Randle ve ark., 1963; Patterson ve ark., 1994; Frayn ve ark; 1996; Tan ve ark., 2003). Kırkımdan sonra kortizol ve NEFA seviyelerinin yükselmiş olması strese bağlı olarak yağ yıkımının bir göstergesi olduğu düşünülmektedir. Gruplar arasında karşılaştırma yapıldığında ise Humik asit ve Kontrol gruplarında kan NEFA düzeyi benzer, Vitamin C grubunda ise bu iki gruptan daha düşük bulunmuştur. Vit C grubunda kırkım sonrasında sayısal olarak kortizol seviyesinin en yüksek olmasına rağmen NEFA düzeyinin istatistiksel olarak düşük olması, C vitamininin hayvanları kırkım stresine bağlı yağ yıkımını bir şekilde önlediğini göstermektedir.

Birçok araştırmacının bildirdiğine göre kırkım stresine bağlı olarak kan kortizol düzeyi yükselmektedir (Pierzchala ve ark., 1983; Hargreaves ve Hutson, 1990a; Mears ve ark., 1999, Fidan ve ark 2009). Yapılan bu çalışmada da bütün gruplarda kırkım sonrasında kan kortizol seviyesi yükselmiştir ($P<0,05$) (Tablo 7). Rjinberk ve Mol (1997), stres faktörlerine yanıt sırasında serbest kortizol konsantrasyonunun %20-30 artabileceğini bildirmiştir. Bazı çalışmalar da göstermiştir ki plasma kortizol konsantrasyonları tıpkı kırkım stresinde olduğu gibi (Hargreaves ve Hutson 1990, Mears ve ark 1999, Pierzchala ve ark, 1983) bir stres faktörüne karşı cevap olarak yükseliş gösterir (Apple ve ark 1993, Carbajal ve Orihuela 2001, Minton ve ark 1992)

Kırkım stresinde gerçekleşen akut metabolik yanıtlardan birisi de kan NEFA seviyesindeki yükselmedir (Aulie ve ark., 1971; Thompson ve ark., 1982; Russel ve ark., 1985; Astrup ve Nedkvitne, 1988; Symonds ve ark., 1988). Symonds ve ark. (1989)'nın bildirdiğine göre kırkım esnasında kan NEFA seviyesinin yükselmesi, kırkımın neden olduğu ısı artışına bağlı olarak şekillenen ve depo yağ dokunun hızla okside olmasına bağlı olarak gelişen bir durumdur. Yapılan bu çalışmada kırkım esnasında kan NEFA düzeyinin arttığı belirlenmiştir. Bu artış kırkım öncesi ve sonrası kanlar karşılaştırıldığında, kırkım sonrasında Humik Asit ve Kontrol

gruplarında istatistiksel olarak, Vit C grubunda ise sadece sayısal olarak artmıştır. Gruplar arasında istatistiksel bir fark olmamasına rağmen Vit C'nin NEFA salınımını, dolayısıyla lipolizisi önleyen bir etki göstermiş olabileceği düşünülmektedir. Bu etkinin mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Ancak Peeters ve ark. (2005)'nin bildirdiğine göre kesilme sevk edilen domuzlarda transport stresinden koruma amacıyla uygulanan Vit C kan NEFA düzeyini düşürmemiş aksine yükseltmiştir. Bu mekanizmanın açığa çıkarılabilmesi için daha kapsamlı çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

5. SONUÇ

Bu çalışmada; Kırkım stresi üzerine Vit C ve Humik asitin etkisi araştırılmıştır. Çalışmada elde edilen sonuçlara göre nabız ve solunum sayılarındaki artışın yanısıra oksidatif stres göstergesi olarak tanımlanan kortizol, MDA, GSH ve NEFA konsantrasyonlarındaki değişimler de koyunlarda kırkım işleminin önemli düzeyde strese sebebiyet verdiği sonucuna ulaşılmıştır.

Uygulanan her iki madde fiziksel yada oksidatif stresin önlenmesinde belirgin bir etki göstermemekle birlikte özellikle diğer gruplara oranla Vit C grubunda gözlemlenen MDA değerindeki anlamlı düşüş ($P<0,001$), Vit C nin önemli bir antioksidan özelliğe sahip olduğunun göstergesidir. İlk kez bu çalışmada Vit C nin stres üzerine etkisi oral yol kullanılarak incelenmiştir. Oral yol ile kullanılan Vit C konsantrasyonunun oksidatif stres parametrelerinden olan MDA üzerine gösterdiği anlamlı etki, Vit C nin hayvan refahı açısından kullanım alanlarının tespit edilip, genişletilmesini gerektirmekte olup, yeni hayvan refahı çalışmalarının planlanmasında rol oynayabileceği düşünülmektedir.

Vit C grubu Kortizol düzeyi açısından diğer gruplardan daha yüksek değerlere sahip iken, NEFA düzeyinin Vit C grubundaki önemsiz artışı, yada diğer bir ifade ile NEFA değerinin fazla yükselmemesi, bu vitaminin tokluklar üzerinde stresten kaynaklı hızla artan yağ mobilizasyonundan koruyucu bir etki meydana getirdiği şeklinde yorumlanmıştır. Güçlü bir antioksidan ve bağışıklık sistemini

kuvvetlendiren önemli bir vitamin olan Vit C nin yağ metabolizması üzerine göstermiş olduğu bu önemli etki de yeni çalışmalarla kapsamlı bir şekilde araştırılmalıdır.

Total Antiosidan Kapasite (TAS) metabolizmanın serbest radikallere karşı verdiği mücadele gücünün en önemli göstergelerinden biridir. Çalışmada TAS değerleri açısından grup içi ve gruplar arasında önemli bir değişikliğe rastlanmamıştır. Ancak, Kontrol ve Vit C gruplarında kırkım sonrasında TAS değerinde çok hafif bir azalma meylî görülmekle birlikte, Humik asit grubunda ise sayısal bir artış saptanmıştır. Bu bulgu Humik asitin antioksidan sistemler üzerine etkili olabileceği izlenimi uyandırmaktadır. Bu yönde bir etkinin varlığının net bir şekilde tespiti için daha kapsamlı araştırmaların planlanması uygun olacaktır.

Sonuç olarak; Kırkım öncesi toklulara oral yol ile verilen Humik asit ve Vitamin C takviyesinin; kırkım stresi üzerine birtakım metabolik farklılıklar oluşturduğu ve özellikle C vitamininin kırkım stresine bağılı yağ mobilizasyonunu önlemede etkin olduğu gözlenmiştir. C vitamininin yağ metabolizması üzerine göstermiş olduğu bu etki, yeni çalışmalarla kapsamlı bir şekilde araştırılmalıdır.

ÖZET

Pırlak ırkı dişi toklularda Vit C ve Humik Asit'in kırkım stresi üzerine etkilerinin araştırılması

Bu çalışma; Kırkım stresi üzerine Vitamin C ve Humik asit maddelerinin etkisi araştırılmak üzere, Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvancılık Uygulama ve Araştırma Merkezinde (KÜHAM) yetişen 16 aylık yaşta, ortalama 35 kg ağırlıkta, 45 baş Pırlak ırkı dişi toklular üzerinde yapılmıştır.

Araştırmada; rastgele seçilmiş, 15'er baş toklunun yer aldığı 3 deneme grubu oluşturulmuştur. Çalışma süresince tüm gruplar aynı çevre ve bakım besleme şartlarına tabi tutulmuşlardır. Kontrol grubuna 10 cc serum fizyolojik, Vit C grubuna % 20'lik 10 cc vit C, Humik asit grubuna ise %15 lik 10 cc Humik asit enjektör yardımı ile oral yoldan 14 gün boyunca günde bir kez sabah saatlerinde verilmiştir. Kırkım günü sabah saatlerinde tüm gruplara son kez fizyolojik tuzlu su Vit C ve Humik asit uygulaması yapılmıştır. Kırkım işlemi öncesi tüm gruplardan rastgele seçilen bireylerden fizyolojik stres parametreleri rektal ısı, nabız ve solunum sayıları ölçülüp kayıt altına alınmış, biyokimyasal stres parametrelerinden ise GSH, MDA, Kortizol, NEFA ve TAS değerlerinin tespiti amacı ile vena jugularisten kan numuneleri alınmıştır. Kırkım işlemi bitiminden toklular 20 dakika dinlendirilmiş ve yine aynı parametreler kırkım sonrası tekrar ölçülerek kayıt altına alınmıştır.

Araştırmadan elde edilen sonuçlara bakıldığında; kırkım öncesi ve sonrası değerlendirmelerde bütün gruplarda nabız ve solunum sayısının yanısıra Kortizol ve NEFA düzeylerinin de önemli derecede artması ($P<0,001$) kırkım işleminin bütün toklularda hem fizyolojik hem de metabolik olarak strese neden olduğunu göstermektedir. **Elde edilen veriler doğrultusunda kırkım sonrasında en yüksek değişim % 170,50 ile Kortizol de olur iken en düşük değişim % 0,301 ile rektal ısıda gerçekleşmiştir.** Kırkımdan hemen sonra kan NEFA seviyesinin kısa süre

içerisinde yükselmiş olması, kırkım esnasında toklularda yoğun bir yağ mobilizasyonunun şekillendiğini göstermektedir

Sonuç olarak; Rasyona Humik asit ve Vitamin C ilavesi; kırkım stresi üzerine birtakım metabolik farklılıklar oluşturmakla birlikte özellikle C vitamininin kırkım stresine bağlı yağ mobilizasyonunu önlemede etkin olduğu gözlenmiştir. C vitamininin yağ metabolizması üzerine göstermiş olduğu bu etki, yeni çalışmalarla kapsamlı bir şekilde araştırılmalıdır.

Anahtar Sözcükler: C Vitamini, Humik Asit, Kırkım Stresi, Koyun, Pırlak,

SUMMARY

Investigation of the effects of Vitamin C and Humic acid on shearing stress in Pirlak Yearling ewes

This study was conducted to examine the effects of Vitamin C and Humic Acid on shearing stress in 45 heads of 16 months aged Pirlak ewes with an average weight of 35 kg at Afyon Kocatepe University Animal Research and Application Center.

Randomly selected three experimental groups each comprising 15 ewes were constituted. All the groups were exposed to the same care and ambient conditions during the whole study. As daily applications, 10 cc normal saline was given to the control group while 10 cc of 20% Vitamin C was given to Vit C group and 10 cc of 15% Humic acid was given to Humic acid group orally via syringes once in the mornings through 15 days.

On the shearing day, all groups received the same solutions for the last time. Physiological stress parameters such as rectal temperature, pulse and respiration figures were measured and recorded in randomly selected animals from all groups before shearing. Similarly, blood samples were taken from jugular vein to determine the biochemical stress parameters such as GSH, MDA, Cortisol, NEFA and TAS. After shearing, ewes were rested for 20 minutes and same parameters were measured once more and recorded. The results obtained in this study showed that shearing process caused both physiologic and metabolic stress in all ewes since pulse and respiration rates as well as cortisol and NEFA levels increased significantly ($P<0,001$). According to the results, the highest change was seen in cortisol levels with 170,50 % while the lowest rate was determined in rectal temperature with 0,301% after shearing process. The sudden increase in blood NEFA level just after shearing indicated an intense fat mobilisation during shearing in ewes. Vitamin C played a preventative role in fat mobilisation due to the shearing stress.

As a result, while supplementation of Humic Acid and Vitamin C into the diet result in some metabolic changes on shearing stress, the effect of Vitamin C in preventing fat mobilisation related to shearing stress was efficient. This effect of Vitamin C on fat metabolism should be studied in detail with new researches.

Key Words: Vitamin C, Humic Acid, Shearing Stress, Sheep, Pirlak

KAYNAKLAR

- AKÇAPINAR, H., ÖZBEYAZ, C., (1999). Hayvan yetiştiriciliği temel bilgileri. ISBN: 975-96978-0-7, Kariyer Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, s: 148-150.
- AKKUŞ, İ. (1995).Serbest radikaller ve fizyolojik etkileri. 2.Baskı, Mimoza Yayınları. Konya
- ALBRİGH, J.L., (2000). Dairy Cattle Behaviour, Facilities, Handling and Husbandry. In, Grandin T (Ed): Livestock Handling and Transport. 2nd ed., pp. 127-151, CAB International, Wallingford, Oxon .
- ALİ, B.H., AL-QARAWİ, A.A., (2002). An evaluation of drugs used in the control of stressful stimuli in domestic animals: A Review. Acta Vet Brno; 71: 205–21.
- ALİ, B.H., AL-QARAWİ, A.A., MOUSA, H.M. (2006) .Stress associated with road transportation in desert sheep and goats, and the effect of pretreatment with xylazine or sodium betaine. Research in Veterinary Science ; 80: 343–348
- ALTINÇEKİÇ, Ş.Ö., KOYUNCU, M. (2012). Çiftlik Hayvanları ve Stres, Hayvansal Üretim 53(1): 27-37.
- ANONİM,(2003). HUMİK ACİD STRUCTURE AND PROPERTIES, [http://www.phelpstek.com/portfolio/samples/humic_acid.html]. Erişim tarihi: 09. 04 2013.
- ANONİM,(2009). VİTAMİNLER ,[<http://www.mustafaaltinisik.org.uk/89-1-10.pdf>] Erişim Tarihi: 03.04.2013.
- ANONİM,(2011). Applications of Humic and fulvic acids in aquaculture. [<http://www.bioremedies.org/research.html>] Environmental Solution Erişim Tarihi; 04.04.2013
- ANONİM,(2013a).HUMİK ASİT [http://tr.wikipedia.org/wiki/H%C3%BCmik_asit]. Erişim tarihi: 0.9 04 2013.

- ANONİM,(2013b). HUMİK ASİT[<http://www.humichealth.info/effects.html>] Erişim Tarihi; 04.04.2013
- ANONİM,(2013c). Organic matter, humus, humate, humic acid and humin; their importance in soil fertility and plant health [http://www.hitechag.com.au/site/defaultsite/filesystem/documents/articles/Organic_matter_Humus_Humate_Humic%20acid.pdf]. Erişim tarihi: 03.04.2013.
- ANONİM,(2013d). C VİTAMİNİ,[<http://tr.wikipedia.org/wiki>] Erişim Tarihi: 03.04.2013
- ANONİM,(2013e). VİTAMİN,[<http://tr.wikipedia.org/wiki>] Erişim Tarihi: 03.04.2013.
- ANTALYALI, A.A.,(2007). Avrupa Birliği ve Türkiye’de Hayvan Refahı Uygulamaları, AB Uzmanlık Tezi Ankara T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Dış İlişkiler ve Avrupa Birliği Koordinasyon Dairesi Başkanlığı.
- ARMARİO, A., GARCİA-MARQUEZ, C.,JOLİN T., (1987). Crowding-induced Changes in Basal and Stress Levels of Thyrotropin and Somatotropin in Male Rats. Behav. Neural. Biol. 48: 334–43.
- AVCI,C., KIZIL,Ö., (2012).Geçiş Dönemindeki İneklerde Stres Parametreleri Üzerine Mineral Uygulamasının Etkileri; F.Ü.Sağ. Bil. Vet. Derg. 26 (2): 87 – 91.
- AVCI,G., KÜÇÜKKURT,İ., FİDAN, F., ERYAVUZ, A., ASLAN, R., DÜNDAR, Y., (2008). Nakil İşlemine Tabi Tutulan Koyunlarda Vitamin C ve Ksilazin Uygulamasının Kortizol ve Lipid Peroksidasyon ile Bazı Biyokimyasal Parametrelere Etkisi: 22 (3): 147 – 152.
- BANDYOPADHYAY, U.K., AJUJA, S.D., (1990). Effect of cage density on some of theegg quality traits in Japanese quail. Indian J. Poultry Sci., 25 (3): 159-162.
- BARNETT, J.L., HEMSWORTH, P.H., (1990). The validity of physiological and behavioural measures of animal welfare. Appl Anim Behav Sci; 25: 177-187.

- BENJAMIN, L.H., PATRÍCIA, P.A.,(2004). Developmental and hair-coat determinants of grooming behaviour in goats and sheep. *Anim. Behav.* 67(1): 11-19.
- BENNIE, P.H., TOMASSEN H.F., ROBERT, H.F., (1999) The use of a Processed Humic acid product as a feed supplement in Dairy Production in the Netherlands._The BioAG Corporation, 1802 N.Carson St. Suite 212-2299, Carson City, Nevada 89701, USA.
- BEUVING, G., JONES, R. B.,BLOKHUIS, H. J., (1989). Adrenocortical and heterophil lymphocyte responses to challenge in hens showing short or long tonic immobility reactions, *British Poult. SeL*, 30, 175-184.
- BROOM ,D.M., (1998). Welfare stress and the evolution of feelings. *Adv Study Behav*; 27: 371-40.
- BROOM, D.M., (2003). Causes of poor welfare in large animals during transport. *Vet Res Comm*, 27 (1): 515-518.
- BROOM,D.M., (1991). Animal Welfare: Concepts and Measurement. *Journal of Animal Science.* 69: 4167-4175.
- CAM, M.A., KURAN, M., (2004). Shearing Pregnant Ewes to Improve Lamb Birth Weight Increases Milk Yield of Ewes and Lamb Weaning Weight *Anim. Sci.* Vol 17, No. 12 : 1669-1673.
- CANNON, W. B., (1935). Stresses and strains of homeostasis. *Am. J. Med. Sci.* 189: 1-14.
- CARCANGIU,V., VACCA, G.M., ARMEGGIANI, A., MURA, M. C., PAZZOLA, M., DETTORI, M. L., BINI, P. P., (2007).The effect of shearing procedures on blood levels of growth hormone, cortisol and other stress haematochemical parameters in Sarda sheep (*Animal* (2008), 2:4, pp 606–612 & The Animal Consortium 2008 doi: 10.1017/S17517311080016511.
- CARR,T.P., ANDERSEN, C.J., RUDEL, L.L., (1993).Enzymatic determination of triglyceride free cholesterol and total cholesterol in tissue lipid extracts. *Clin Biochem*; 26: 39-42.

- CENGİZ, F., (2001). Hayvanlarda zorlanım oluşturan etkenler. J Fac Vet Med, 20: 147-153.
- CHAN, A.C., (1993).Partners in defense, vitamin E and vitamin C. Can J Physiol Pharmacol; 71: 725 731.
- ÇELİK, C., (2006) Stresli Fareler (Mus Musculus)'in Kan, Beyin Ve Karaciğerlerindeki Toplam Glukoz Ve Toplam Kolesterol Seviyelerine Tegretol, Anason (Pimpinella Anisum), Havlıcan (Alpina Officinarum) Ve Ginkgo (Ginkgo Biloba)'Nun Etkileri, Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- ÇETİN,E., GÜÇLÜ, B.K.,CETİN,N., (2011). Effect of Dietary Humate and Organic Acid Supplementation on Social Stress Induced by High Stocking Density in Laying Hens.J. of Anim and Vet Advan, 2011: 10 (18):2402-2407.
- DALKILIÇ, B., GÜLER T., ÇİFTÇİ, M., ERTAŞ, O.N., ÇERÇİ, İ.H., (2005). Barınak Yoğunluğunun Toklularda Yem Tüketimi, Canlı Ağırlık Artışı ve Yemden Yararlanma Üzerine Etkisi.
- DANTZER,R., (2001). Stress emotions and health: where do we stand? Social Science Information. 40: 61-78.
- DEĞİRMENCİOĞLU, T.,(2012). Effects of Diets Containing Humic Acid on the Milk Yield, Milk Composition and Blood Metabolites in Saanen Goats. Research Journal of Animal Sciences, 6: 4-7.
- DEMİRÖREN, E., TAŞKIN T., TAKMA,Ç., (2002). Aşırı Sıcak Baskısında Kalan Koyun ve Keçilerin Fizyolojik Uyum Yetenekleri Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg., 2002, 39 (2):79-86 ISSN 1018-8851.
- DİZMAN, M., TUTAR ,A., KARAMAN,M.R., TURAN,M., HORUZ, A., (2012) Humik Maddelerin İlaç Olarak Kullanımı Ve İnsan Sağlığına Etkileri SAÜ Fen Edebiyat Dergisi (2012-1).
- DOWNİNG, J.A., BRYDEN, W.L., (2002). A non-invasive test of stress in laying hens. A report for the Rural Industries Research and Development Corporation, RIRDC

- DÖNMEZ, H. H., YÖRÜK, M., ÇINAR, D.A., DÖNMEZ, N.,(2007). Effects of vitamin C on ANAE positivity and blood cells in chicken. *Ind. Vet. J.*
- DUNCAN, I.J., (1998). Behavior and Behavioral Needs, *Poultry Science*, 77: 1766-1772.
- EMEA, (1999). Humic acids and their sodium salts, Summary Report, Committee for Veterinary Medicinal Products, EMEA/MRL/554/99-FINAL, pp. 12.
- EREN, M., DENİZ, G., GEZEN, S.S., TÜRKMEN, I.I., (2000). Broyler Yemlerine Katılan Humatların Besi Performansı, Serum Mineral Konsantrasyonu ve Kemik Külü Üzerine Etkileri. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*; 47: 255-263.
- ERGİN Ş., (2007). AB Mevzuatında Hayvan Refahı, *Vilsan Dergi Sayı-8*
- FAYED, R.H., (2001). Effect of sheep shearing on behaviour, physiology and performance. *Egyptian Soc. Anim. Reprod. Fert.*, 13th Ann. 1 Congr. Giza 22-26 Jan., pp. 97-110.
- FAZİO, E, MEDİCA ,D., CAVALERİ ,A.S.,(2005). Effect of longdistance road transport on thyroid and adrenal function and haematocrit values in limousin cattle: influence of body weight decrease. *Vet Res Comm*; 29: 713-719.
- FERNANDEZ, X., MONÍN,G., CULIOLÍ,J., LEGRAND,I., QUİLICHINI,Y.,(1996). Effect of duration of feed withdrawal and transportation time on muscle characteristics and quality in Friesian-Holstein calves. *J Anim Sci*, 74, 1576-1583.
- FİDAN,A.F.,KÜÇÜKKURT,İ.,ERYAVUZ,A.,CİĞERCİ,İ.H.,YARDIMCI,M., ÖZDEMİR,A.,(2009). Effects of shearing procedures on oxidantantioxidant status in Chios sheep ;*Revue Méd. Vét.*, 160, 7, 349-355.
- FİDAN, A. F., PAMUK, K., ÖZDEMİR, A., SARITAŞ, Z.K., TARAKÇI,U. (2010) Effects of dehorning by amputation on oxidantantioxidant status in mature cattle, *Revue Méd. Vét.*, 161, 11, 502-508.
- FREEMAN, B.M., MANNİNG, ACC.,FLACK, İ. H., (1983). Adrenal cortical activity in domestic fowl, *Gallus domesticus*, following withdrawal of water or food, *Comp. Bioch. Physiol.*, 70A, 639-641.

- GAMALLO, A., VILLANUA, A., TRANCHO, G. FRAÏLE, A., (1986). Stress Adaptation and Adrenal Activity in Isolated and Crowded Rats. *Physiol. Behav.* 36: 217–21.
- GERMANN, P.G., KOHLER, M., ERNST, H., BAUMGART, H., MOHR, U., (1990). The Relation of Amyloidosis to Social Stress Induced by Crowding in The Syrian Hamster (*Mesocricetus auratus*). *Z. Versuchstierkd.* 33: 271–5.
- GIOVAGNOLI, G., TRABALZA MARINUCCI, M., BOLLA A., (2002). Transport stress in horses: an electromyographic study on balance preservation. *Livestock Production Science*; 73: 247-254.
- GRANDÍN, T., (2000). *Livestock Handling and Transport*. CABI Publishing. New York.
- GROPP, J.M., BIRZER, D., SCHUHMACHER, A., (1992). Vom Gesamtnutzen der Futterzusatz-stoffe; ein Beitrag zur Auflösung des Widerstreits von Ökonomie und Ökologie. *Schriftenreihe der Akademie für Tiergesundheit*, Bonn, Band 3. Verlag der Ferber'schen Universitätsbuchhandlung Gießen.; 168-204.
- GUYTON, A. C., (1986). *Textbook of Medical Physiology*, 7th Ed., W. B. Saunders Co., Philadelphia.
- HAFEZ, E. S. E., (1969). *The Behaviour of Domestic Animals*. Bailliére, Tindall and Cassell Ltd., London.
- HALES, J. R. S., BROWN, G. D., (1974). Net Genetic and Thermoregulatory Efficiency During Panting In The Sheep. *CBCPA Volume 49, Issue 3A*.
- HALL, SJ. G., BROOM. D.M., GOODE, J.A., LLOYD, D.M., PARROTT, R.F., RODWAY, R.G.,(1999). Physiological responses of sheep during long road journeys involving ferry crossings. *Anim. Sci.* 69: 19-27.
- HALVORSAN, J.C., WAIBEL, P.E., OJU, E.M., NOLL, S.L., EL HALAWANI, M.E., (1991). Effect of diet and population density on male turkeys under various environmental conditions. *Poultry Sci.*, 1991; 70: 935-940.

- HARGREAVES A.L., HUTSON G.D. (1990a). Changes in heart-rate, plasma cortisol and haematocrit of sheep during a shearing procedure. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 26, 91-101.
- HARGREAVES, A. L., HUTSON, G.D., (1990b). The stress response in sheep during routine handling procedures. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 26: 83-90.
- HARVEY, S., PHILLIPS, J. G., REES, A., HALL, T. R., (1984). Stress and adrenal function, *J. Exp. Zoo.*, 232, 633-645
- HEISE, S.R., ACKER, A., (2000). The Effect of Social Environment on The Immune Response of Female Common Voles in Matriarchal Laboratory Groups. *Physiol. Behav.* 71: 289-96.
- HEMSWORTH, P.H., BARNETT, J.L., COLEMAN, G.J., (1993). The human-animal relationship in agriculture and its consequences for the animal, *Animal Welfare*, 2: 33-51.
- HEMSWORTH, P.H., COLEMAN, G.J., BARNETT, J.L., JONES, R.B., (1994). Behavioural responses to humans and the productivity of commercial broiler chickens, *Applied Animal Behaviour Science*, 41: 101-114.
- HERMAN, J.P., CULLINAN, W.E., (1997). Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Trends in Neurosciences* 20, 78-84.
- HILL, J.A., (1983). Indicators of stress in poultry. *World's Poult. Sci. J.* 39: 24-32.
- ISLAM, K.M.S., SCHUHMACHER, A., GROPP, J.M., (2005). Humic Acid Substances in Animal Agriculture. *Pakistan J. Nutr.* 4(3): 126-134.
- JONES, R. B., (1987). Assessment of fear in adult laying hens: correlational analysis of methods and measures, *British Poult. Sci.*, 28, 319-326.
- JONES, R. B., (1989). Chronic stressors, tonic immobility and leucocytic responses in the domestic fowl, *Physiology and Behavior*, 46, 439-442.
- JONES, R.B., (1996). Fear and adaptability in poultry: insights, implications and imperatives, *World's Poultry Science Journal*, 52: 131-174.

- JORENO, D.R. ,(1990).Malondialdehyde and thiobarbituric acid reactivity as perostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. Free Rad Biol; 9: 515-540.
- KARA, N.K., KOYUNCU, M., (2010). Sığırlarda Taşıma Sırasında Hayvan Refahına Etki Eden Faktörler; Makale Kodu KVFD-3703.
- KATZ,D., MAZOR ,D., DVILANSKY,A.,(1996). Effect of radiation on red cell membrane and intra cellular oxidative defense system. Free Red Res; 24 (3): 199-204.
- KAY,N.H., ALLEN, M.C., BULLİNGHAM, R.E.S., (1985).Influence of meptazinol on metabolic and hormonal responses following major surgery. Anesthesia; 40: 223-228.
- KEÇECİ ,T., KOCABATMAZ,M., (1995a). Deneysel Olarak Stres Oluşturulan Leghorn Horozlarda Askorbik Asit (Vitamin C) Ve Asetil Salisilik Asit (Aspirin)'in Bazı Hematolojik Parametreler Üzerindeki Etkisi: Vet. Bil. Derg. (1995), 11, 2: 53 – 58.
- KEÇECİ ,T., KOCABATMAZ,M., (1995b).Horozlarda Stress Ve Askorbik Asidin Bazı Kan Metabolitleri Üzerindeki Etkisi Vet. Nü. Derg. (1995A), 11,2: 29-33.
- KEELİNG, L., JENSEN, P., (2002). Behavioural Disturbances, Stress and Welfare. In: The Ethology of Domestic Animals, An Introductory Text. Ed. by P. Jensen. CABI Publishing, 79-99.
- KELLEY, K.W., (1980). Stress and immune function: A bibliographic review. Ann. Rech. Vet. 11: 445-478.
- KENT, J.E., EWBANK, R., (1986).The effect of road transportation on the blood constituents and behavior of calves. III. Three months old. Br Vet J; 142: 326–335.
- KNOWLES, T.G., (1998). A review of the road tranport of slaughter sheep. Vet Rec, 143: 212-219.

- KOLUMAN, N., GÜNEY, O.,(1994). Küçük Ruminantlarda Adaptasyon Mekanizmaları. Ç. Ü. Z. F. Dergisi, 1994. 9.(4): 41-56.
- KOOLHAAS, J. M., SCHUURMAN, F., FOKKEMA, D. S., (1985). Social behavior in rats as a model for the psychophysiology of hypertension. In: Biobehavioral Bases of Coronary Heart Disease. Ed.: Dembroski, T. M., Schmidt, T. H., Blumchen, J., Basel: Karger, pp. 391-400.
- LAUB, R., (1999). Process for preparing synthetic soil-extract materials and medicament based thereon, U. S. Patent 5,945,446.
- MARAİ, I.F.M., EL-DARAWANY, A.A., FADIEL, A., ABDEL-HAFEZ, M.A.M., (2007). Physiological traits as affected by heat stress in sheep. Small Ruminant Research 71, 1–12.
- MCDONALD, L.E.,(1975). Veterinary endocrinology and reproduction, 1st edition. Lea and Febiger, Philadelphia, USA.
- MCEWEN, B.S., (2000). The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance. Brain Res. 886 (1/2):172-189.
- MCMAHON, M., GERİCH, J., RİZZA, R., (1988). Effects of glucocorticoids on carbohydrate metabolism. Diabetes Metabolism Reviews 4, 17–30.
- MEARS, G.J., BROWN, F.A., REDMOND, L.R. (1999).Effects of handling, shearing and previous exposure to shearing on cortisol and betaendorphin responses in ewes. Can. J. Anim. Sci.79, 35-38.
- MENCH, J.A., (2004). Management, handling, and transport of farm animals, in Global conference on animal welfare: an OIE initiative, Paris, France, pages: 149-155.
- MENGİ, A., (1989). Organzima Direncinin Stres ve Beslenmeyle Değişimi. İstanbul Üniv. Vet. Fak. Dergisi; 15-1: 81-92.
- MINKA, N.S., AYO, J.O (2009) Physiological responses of food animals to road transportation stress. Afr. J. Biotechnol., 8, 7415- 7427

- MITCHELL, M.A., KETTLEWELL, P.J.,(1998). Physiological stress and welfare of broiler chickens in transit: solutions not problems, *Poultry Science*, 77: 1803-1814.
- MILLER, D.B., O'CALLAGHAN, J.P.,(2002). Neuroendocrine aspects of the response to stress. *Metabolism* 51 (suppl. 1), 5–10.
- MILLS, A.D., FAURE, J.M. (2000). Ease of capture in lines of Japanese quail (*Coturnix japonica*) subjected to contrasting selection for fear or sociability, *Applied Animal Behaviour Science*, 69: 125–134.
- MINELT, T., SCHRECKENBACH, K., PIETROCK, M., HEIDRICH, S., STEINBERG, C.E.W.,(2008). Humic Substances Part 1: Dissolved Humic Substances (HS) in Aquaculture and Ornamental Fish Breeding. *Environmental Science and Pollution Research*. 15(1):17-22.
- MINTON ,J.E., (1994).Function of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the sympathetic nervous system in models of acute stress in domestic farm animals. *J Anim Sci.*; 72: 1891-1898.
- MOBERG, G.P.,(1975). Effects of environment and management stress on reproduction in the dairy cow. *J. Dairy Sci.* 59: 1618-1624.
- MOBERG, G.P., (2000). Biological response to stress: implications for animal welfare. In: *The Biology of Animal Stress. Basic Principles and Implications for Animal Welfare*. Ed.: G.P. Moberg, J.A. Mench, New York: CABI Publishing, pp: 1-21.
- MORGAN, K.N.,TROMBORG, C.T., (2007).Sources of stress in captivity, *Applied Animal Behaviour Science*, 102: 262–302.
- MORMEDE, P., DANTZER, R., BLUTHE, R.M., CARÍTEZ, I.E., (1984). Differences in adaptive abilities of three breeds of Chinese pigs. *Genet. Sel. Evol.* 16: 85-102.
- NAGVI, S.M.K., HOODA, O.K., SAXENA, P., (1991). Some plasma enzymes of sheep under thermal, nutritional and exercise stresses. *Indian Vet. J.* 68: 1045-1047.

- OĞAN, M. (1995). Broiler üretiminde değişik yerleşim sıklığı ve kesim yaşlarında büyüme ve ekonomik verimlilik. *Uludağ Üni. Vet. Fak. Derg.* 14,(1-2-3):19-29.
- ÓLAFUR R. D.,(1991). Shearing time of sheep with special reference to conditions in northern Europe: a review. *Agricultural Society of Iceland, Bændahöllin, ICEL. AGR. SCI.* 39–46
- PAULL,D.R., LEE,C., ATKINSON, S.J., FİSHER, A.D., (2008). Effects of meloxicam or telfenamic acid administration on the pain and stres responses of Merino lambs to mulesing. *Aust Vet J*, 86: 303-311.
- PIERZCHALA, K., BOBEK, S., NIEZGODA J., EWY, Z., (1983).The effect of shearing on the concentration of cortisol and thyroid-hormones in the blood-plasma of sheep. *Zentralbl. Veterinarmed.*, 30, 749-759.
- PLAZNİK, A., PALEJKO, W., STEFANSKİ, R., KOSTOWSKİ, W., (1993). Open Field Behavior of Rats Reared in Different Social Conditions: The Effects of Stress and Imipramine. *Pol. J. Pharmacol.* 45: 243–52
- Publication No 01/143. RIRDC Project No. US-71A, February 2002. Available from: <http://www.smallstock.-info/reference/RIRDC/01-143.pdf>.
- QUANKENBUSCH, G., (1999). Maintaining herd immunity. http://www.moomilk.com/archive/a_health_38.htm. Erişim Tarihi:
- RABİE ,M.H., SZİLAGYÍ, M., GİPPERT, T., (1997).Effects of dietary L-carnitine on the performance and egg quality of laying hens from 65-73 weeks of age. *Br J Nutr*, 78(4): 615-623.
- RAVAGNOLO, O., MİSZTAL, I., HOOGENBOOM,G., (2000). Genetic component of heat stress in dairy cattle, development of heat index function. *J Dairy Sci*; 83: 2120–2125.
- REMÍGNON,H., MİLLS, A.D., GUE`MENE, D., DESROSİERS, V., GARREAU-MİLLS, M., MARCHE, M., MARCHE, G., (1998). Meat quality traits and muscle parameters in high and low fear lines of Japanese quail (*Coturnix japonica*) subject to acute stres, *British Poultry Science*, 39: 372-378.

- RIJNBERK, A.D., MOL, J.A., (1997).Adrenocortical function. In: Clinical Biochemistry of Domestic Animals / edit: J.Jerry Kaneko, John W. Harvey, Michael L. Bruss. 5th edition. Academic Pres. Inc., Chapter 20,:553-568.,
- RUIZ-DE-LA-TORRE, J.L., VELARDE, A., DIESTRE, A., (2001) Effects of vehicle movements during transport on the stress responses and meat quality of sheep. The Vet Record; 148: 227–29.
- RUNG,J.G., HSIN, L.Y., JAU, L.S., FUNG, J.L., (2001).Induction of Oxidative Stres by Humic Acid through Increasing Intracellular Iron: Possible Mechanism Leading to Atherothrombotic Vascular Disorder in Blackfoot Diease. Biochemical and Biophysical Research Communications 2001; 283: 743–749.
- RUSHEN, J., TAYLOR, A.A., DE PASSILLE, A.M., (1999). Domestic animals' fear of humans and its effect on their welfare, Applied Animal Behaviour Science, 65: 285–303.
- SAVAŞ,T., Hayvan ve çevresi davranışları B.Hayvan Ekololijisi. [<http://zootekni.comu.edu.tr/class/cevredavranis/Hayvan%20Ekolojisi.pdf>] Erişim Tarihi:
- SEEMAN, M., (1991). Is Vitamin C essential in poultry nutrition. Misset World Poultry V:7 No:8 17-19
- SELYE, H., (1956). The stress of life. McGraw Hill Book Co., New York. p. 324.
- SELYE, H., (1973). The evalution of stress concept, Am. ScL, 61, 692.
- SİEGEL, H.S.,(1985). Immunological responses as indicators of stress. World's Poult. Sci. J. 41: 36-44.
- SİVAKUMAR,V. N., SİNGH, G., VARSHNEY, V. P., (2010).Antioxidants Supplementation on Acid Base Balance during Heat Stress in Goats Center for Advanced Studies on Physiology and Climatology, Indian Veterinary Research Institute, Izatnagar, 243 122, Uttar Pradesh, India Asian-Aust. J. Anim. Sci. Vol. 23, No. 11: 1462 – 1468 November www.ajas.info

- SRIKANDAKUMAR, A., JOHNSON,E.H.,MAHGOUB, O.(2003). Effect of heat stress on respiratory rate, rectal temperature and blood chemistry in Omani and Australian Merino sheep. *Small Ruminant Research* 49, 193–198.
- ŞİMŞEK,Ü.G., ÇİFTÇİ, M., ÇERÇİ, I.H., BAYRAKTAR, M., DALKILIÇ,B., ARSLAN, O., BALCI,T.A.,(2011). Impact of stocking density and feeding regimen on broilers: performance, carcass traits and bone mineralization. *JAAR*, Baskıda (DOI:10.1080/09712119.2011.588394).
- TAN, K. H., (2003). *Humic Matter in Soil and the Environment*, Ch. 4, p. 1–50.
- TARRANT, P.V., (1990). Transportation of cattle by road. *Appl Anim Behav Sci*, 28, 153-170.
- TEORIEN, C.A., PACHALA, R., MCCANN, J.P, GOETSCH, A.L. (1999). Adrenocortical response to ACTH in Angora and Spanish goat wethers. *J. Anim. Sci.* 77: 1558-1564.
- TSUKAMOTO, K., MACHIDA, K., INA, Y., KURIYAMA, T., SUZUKI, K., MURAYAMA, R. ,SAIKI, C., (1994). Effects of Crowding on Immune Functions in Mice. *Nippon Eiseigaku Zasshi.* 49(4): 827–36.
- TUNÇ, M.A., (2007).Humatların Koyunlarda Rumen Parametreleri ve Bazı Kan Değerleri Üzerine Etkisi; Yüksek Lisans Tezi
- WEFERS,H., SİES,H,. (1988). The protection of ascorbate and glutathione against microsomal lipid peroxidation is dependent on vitamin E. *Eur J Biochem*; 174: 353-357.
- WEST, J.W., (1998). Nutritional Strategies For Managing The Heat-Stressed Dairy Cow. *J. Anim. Sci.* 77: 21-35
- WEST, J.W., (2003). Effects of heat stres on productionin dairy cattle. *J Dairy Sci*; 86: 2131–2144.
- YALÇIN, C., SARIÖZKAN, S., YILDIZ, A.S., GÜNLÜ, A., (2006). Türkiye Damızlık Sığır Yetiştiricileri Merkez Birliği'ne Bağlı Süt Sığırcılık İşletmelerinde Endemik Hastalıklar Ve İşletme Düzeyinde Meydana

Getirdiği Ekonomik Kayıplar. Nihai proje raporu. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü.

YARDIMCI, M., ŞAHİN, E.H., ÇETİNGÜL, İ.S., BAYRAM, İ., ASLAN, R., ŞENGÖR, E., (2012). Stress responses to comparative handling procedures in sheep. 7(1):143-50. doi: 10.1017/S1751731112001449

YILDIZ, Ü., SAATÇI ,M.,(2009). An evaluation of the welfare in the large and small animal transportations made from Sarıkamış. Kafkas Univ Vet Fak Derg, 15 (3): 363-368.

ZANARDİ, E., MUSSİNİ, V., GHİDİNİ, S., CONTER, M., IANIERİ,A., (2007). Survey on animal welfare and protection during transport in northern Italy. Ann Fac Medic Vet di Parma, 27, 33-42.

ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Afyonkarahisar ilinde doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini burada tamamladı.1999 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni (Hayvansal Üretim) bölümünü kazanarak 2004’de mezun oldu.2008 yılında Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Zootekni Anabilim Dalında mastıra kazanarak öğrenime başladı.

Serbest olarak mesleki hayatına devam etmektedir.