Kafkas Üniv Vet Fak Derg
14 (1): 51-56, 2008

Üreme Mevsimi Dışındaki Tuj Irkı Koyunlarda Testosteron Antikoru ile β-Karoten ve E Vitamini Uygulamalarının Çoğul Gebelik ve MDA (Malondialdehit) Üzerine Etkisi [1]

Cihan KAÇAR* Nadide Nabil KAMİLOĞLU** Kutlay GÜRBULAK***
Şükrü Metin PANCARCI* Örsan GÜNGÖR* Kazım GÜVENÇ**** Erdal SABAN*****

[1] *Bu araştırma Kafkas Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir (Proje no: 204 – VF-04)*

* Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Kars-TÜRKİYE
** Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Kars-TÜRKİYE
*** Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Kayseri - TÜRKİYE
**** İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, İstanbul - TÜRKİYE
***** Türkiye Atom Enerjisi Kurumu, Ankara - TÜRKİYE

Yayın Kodu (Article Code): 2008/03-A

Özet

Bu çalışmada üreme mevsimi dışında bulunan Tuj ırkı koyunlarda Testosteron antikoru, β-karoten ve E vitamini uygulamaları ile çoğul gebeliğin artırılması ve MDA (Malondialdehit) düzeylerinin azaltılması amaçlanmıştır. Testosteron antikoru kastre edilmiş Tuj ırkı bir koçtan elde edildi. Çalışma 29 adet koyunda 3 grup halinde yapıldı. Grup I'deki koyunlara (n=10) vaginal süngerlerin uygulanmasından 1 hafta önce testosteron antikoru, β-karoten ve E vitamini uygulandı. Grup II'deki (n=9) koyunlara testosteron antikoru uygulandı. Grup III'deki (n=10) koyunlar ise kontrol grubunu oluşturdu. Koyunlardaki östrus oranları; I. Gruptaki koyunlarda %90.0, II. Gruptaki koyunlarda %88.9 ve III. Gruptaki koyunlarda %100.0 olarak belirlendi. Gebelik oranları ise Grup I, II ve III'de sırasıyla %40.0, %33.3 ve %50.0 oranında belirlendi. Grup I ve Grup II'deki koyunlarda çoğul gebelik elde edilirken kontrol grubu koyunlarda çoğul gebelik elde edilmedi. Gebe ve gebe olmayan tüm koyunlarda vaginal sünger uygulamasından 28 gün sonra plazma MDA düzeylerinin arttığı belirlendi ancak gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark tespit edilmedi (P>0.05). Sonuç olarak testosteron antikoru, β-karoten ve E vitamini uygulamasının çoğul gebelik görülme oranında artışa neden olduğu görüldü.

Anahtar sözcükler: *Koyun, Testosteron antikoru, β-karoten, E Vitamini, Senkronizasyon, Malondialdehit (MDA)*

The Effect of Administration of Testosterone Antibody, β-Carotene and Vitamin E on Multiple Pregnancy and MDA (Malondialdehyde) in Tuj Breed Sheep in Non-Breeding Season

Summary

In this study, we aimed an increase in multiple pregnancy and a decrease in MDA (Malondialdehyde) levels in Tuj breed sheep which are in non-breeding season by administration of testosterone antibody, β-carotene and vitamin E. Testosterone antibody was obtained from a castrated Tuj ram following injections of testosterone. Experiment was carried out in 29 sheep divided into three groups. Group I (n=10) was administered testosterone antibody, β- carotene and vitamin E one week prior to placement of vaginal sponges. Group II (n=9) was administered testosterone antibody alone and Group III (n=10) was control group. Oestrus rates were detected as 90%, 88.9% and 100% in Groups I,II and III, respectively. Pregnancy rates were found 40%, 33.3% and 50% in Groups I,II and III, respectively. Multiple pregnancy was seen in Groups I and II but not in control group. MDA levels were increased in all sheep regardless of pregnancy on day 28 after vaginal sponge application, but no significant difference was detected between the gropus((P>0.05). It was concluded that administration of testosterone antibody and β-carotene caused an increase in multiple pregnancy rate in sheep.

Keywords: *Sheep, Testosterone antibody, β-carotene, Vitamin E, Synchronization, Malondialdehyde (MDA)*

İletişim (Correspondence)

Phone: +90 474 242 68 00/1233
E-mail:cihan3000@hotmail.com

GİRİŞ

Doğu Anadolu Bölgesi, Kars ve çevresinde yetiştirilen Tuj ırkı koyunlar Ekim ve Kasım ayları arasında östrus göstermekte olup, döl verimi %91.1, kuzulama oranı %1.55, laktasyon süt verimi ise 50-55 kg'dır [1-3].

Koyunlarda üreme mevsiminde progestagenler, prostaglandinler, GnRH ve PMSG gibi hormonlar östrus senkronizasyonu amacıyla kullanılmaktadır. Bu hormonlar östrusu geciktirip ovulasyonu bloke ederek yada siklik corpus luteumu lize ederek görev yaparlar. Üreme mevsimi dışında ise ovaryumlardaki fonksiyonel aktiviteyi uyarmak için progestagenler ve PMSG hormonları sıklıkla uygulanmaktadır [4-9]. Progestagenlerden vaginal süngerler pratik, uygulamasının kolay olması ve yüksek oranda başarı elde edilmesi nedeniyle daha çok tercih edilmektedir [5,7].

Koyunlarda aktif ve pasif immunizasyon ile gonadal steroid hormonlar etkilenerek ovulasyon oranının artırıldığı bildirilmektedir [10,11]. Aktif veya pasif immunizasyon sonucu plazmadaki antikor seviyesi artırılarak anöstrus insidansının düşmesi sağlanmaktadır [12].

β-karoten genelde A-vitamininin ön maddesi olarak bilinmekle birlikte, yapılan çalışmalar β-karoten'in provitamin olma özelliğinin yanında döl verimini etkileyen faktörler arasında yer aldığını göstermiştir. β-karoten'e bağlı olarak follikül kalitesinin, follikül büyüklüğünün, intrafolliküler 17-β-östradiol konsantrasyonunun değiştiği belirlenmiştir [13]. Araştırmacılar β-karoten'in eksikliğinde; suböstrus, ovulasyonda gecikme, düşük dölleme oranı, gelişmesi gecikmiş ve küçük boyutlu corpus luteum, siklus sırasında ve gebeliğin ilk döneminde progesteron sentezinde azalma, gebeliğin ilk üç ayında embriyonik ve fötal ölüm oranında artış gözlendiğini bildirmişlerdir [14,15]. Yapılan bir çalışmada ovulasyonun şekillenmesinde gerekli bir enzim olan kollegenaz enziminin β-karoten eksikliğinde yetersiz olduğu bildirilmektedir [16]. β-karoten ovaryum ve uterusun steroidojenik hücrelerini de oksidatif hasara karşı korur [17]. Aynı zamanda β-karoten kolesterol yan zincirini ayıran enzim olan sitokrom P450'yi (CP450), malendialdehit (MDA) gibi serbest oksijen radikalinin etkisinden koruyarak steroidogenezisi artırmaktadır. β-karotenin progesteron sekresyonunu artırıcı etkisinin antioksidan özelliğinden kaynaklanabileceği ileri sürülmektedir [18].

E vitamini, α, β, δ, γ-tokoferol gibi çeşitli yapılarda bulunmaktadır. Antioksidan aktivitesi en yüksek olan ise α-tokoferol'dür. E vitamininin bilinen en önemli özelliklerinden biri antioksidan olması dolayısıyla doymamış yağ asitlerinin otooksidasyonunu önlemesidir. Bu vitamin intrasellüler membranların yapısını bozan peroksit ve hidroperoksitleri doyurarak peroksit radikallerinin oluşumunu önler. Çeşitli hayvan türlerinde E vitamini eksikliğine bağlı olarak dişilerde, fötal rezorpsiyon, ölü doğum, yavrularda gelişim geriliği, musküler distrofi, embriyoda vasküler dejenerasyon, erkeklerde testis atrofisi ve sterilite şekillenmektedir [19,20].

Bu çalışma, üreme mevsimi dışında Fluorogeston asetat içeren vaginal süngerler ve PMSG ile senkronize edilen Tuj ırkı koyunlarda testosteron antikoru ile ovulasyon oranı ve dolayısıyla çoğul gebelik oranını artırmak, β-karoten ve E vitamini uygulamaları ile de östrus oranı ve çoğul gebelik oranını artırmak ve gebelik nedeniyle artan malondialdehit'in (MDA) plazma konsantrasyonunu düşürmek amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Testosteron Antikorlarının Elde Edilmesi

Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesinde kastre edilmiş sağlıklı Tuj ırkı bir koça 3 hafta aralıklarla 5 enjeksiyon yapıldı. İlk enjeksiyonda 5 mg-BSA Testosteron (SIGMA) 2.5 ml Comple Freund's Adjuvant (SIGMA) içerisinde karıştırılarak sırt derisi içerisine farklı bölgelerden enjekte edildi. Enjeksiyonlar öncesi serum testosteron düzeyi ve serum antikor düzeylerinin belirlemesi amacıyla vena jugularisten kan örnekleri alındı. İkinci enjeksiyon ve diğer enjeksiyonlar 3 mg BSA-Testosteron Incomple Freund's Adjuvant (SIGMA) içerisinde yapıldı. Üçüncü enjeksiyon ve diğer enjeksiyonlar sonrası 7. günde antikor düzeylerini belirlemek için kan örnekleri alındı. Alınan kanlar 3000 devirde 20 dakika santrifüj edilerek plazmalar çıkarıldı ve ölçümler yapılıncaya kadar -20°C'de saklandı. Testosteron ve testosteron antikor düzeyleri ELISA yöntemi ile belirlendi [21-23].

Hayvan materyali

Araştırma Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvancılık Araştırma ve Uygulama Çiftliğinde bulunan Tuj ırkı koyunlarda yapıldı. Bu çalışmada, mevsim dışı dönemindeki 3-5 yaşları arasındaki 29 adet Tuj ırkı koyun ve 6 adet Tuj ırkı koç kullanıldı.

Metot

Çalışma ilkbahar mevsiminde Mayıs ayında yapıldı. Grup I'deki koyunlara (n=10) vaginal süngerlerin uygulanmasından 1 hafta önce testosteron antikoru, β-karoten ve E vitamini uygulandı. Grup II'deki (n=9) koyunlara ise aynı gün yalnızca testosteron antikoru uygulandı. Grup III'deki (n=10) koyunlar ise kontrol grubu olarak değerlendirildi. Koyunlara ısı ve ışık süreleri ile ilgili bir program uygulanmadı. Araştırmadaki tüm koyunlara aynı bakım ve beslenme koşulları uygulandı. Koyunlardaki beslenme protokolü kapalı barınaklarda elden beslemeli şekilde yapıldı. Çalışmada senkronizasyon amacıyla 40 mg Cronolone (Fluorogeston asetat) içeren vaginal süngerler (Chrono-gest sünger, İntervet, Türkiye) 12 gün süreyle her üç gruba uygulandı ve süngerlerin çıkarıldığı gün 600 IU Chrono-gest (PMSG) IM yolla enjekte edildi. Uygulamalardan sonra östrus gösteren koyunlar 6 adet arama koçu ile tespit edilerek kontrollü doğal aşım ile tohumlandı.

Antikor enjeksiyonu SC ve vitamin enjeksiyonları IM olarak uygulandı. Antikor 1.5 IU standart dozda (1/150 titre antiserum-10 µl), Dalmavital® (1 ml'de 15 mg β-karoten ve 18.22 mg dl-α-tokoferol [Vitamin E]'e eşdeğer 20 mg dl-α-tokoferol asetat, Vetaş, İstanbul, Türkiye) 0.5 ml/10 kg c.a. dozunda IM yolla uygulandı. Gebelik tanısı aşımı takiben 30. günde Pie Medikal 100 Falko Vet Model portatif ultrasonografi kullanılarak 6.0-8.0 MHz linear prob ile transrektal yolla yapıldı. Gruplardaki çoğul gebelikler koyunlar doğum yaptıktan sonra belirlendi.

Koyunlarda MDA düzeylerinin belirlenmesi için vaginal sünger uygulamasından bir hafta önce, vaginal sünger uygulamasının yapıldığı gün (0. gün), vaginal sünger uygulamasından 4, 12, 21 ve 28 gün sonra vena jugularisten EDTA'lı tüplere kan alındı. MDA düzeylerinin belirlenmesi Ohkawa ve ark. [24] belirttiği spektrofotometrik yönteme göre yapıldı.

Elde edilen verilerin istatistiksel analizleri SPSS 12.0 istatistik programında ANOVA (Duncan), t-test ve descriptes istatistik programları ile yapıldı.

BULGULAR

BSA-Testosteron antikor üretiminde, 3. enjeksiyon sonrası yapılan antiserum titre tayinlerinde antikor düzeyi 1:25 iken, daha sonraki uyarmalarda bu oranın artarak 1:50 ve 1:150 olduğu belirlendi. Uygulamalarda 1:150 titredeki (6.60 µl/ml) antiserumlar kullanıldı. Testosteron düzeyi ise ortalama 0.54 ng/ml bulundu.

Koyunlardaki östrus oranları; I. Grupta %90.0 (9/10), II. Grupta %88.9 (8/9) ve III. Grupta %100.0 (10/10) olarak belirlendi. Koyunların östrus gösterme zamanları *Tablo 1*'de gösterilmiştir. Tüm koyunların ortalama östrus gösterme zamanlarının vaginal süngerin çıkarılmasından 51.8±11.1 saat sonra olduğu tespit edildi. Östrus görülme zamanları bakımından gruplar arasında istatistiksel bir fark belirlenmedi ($p>0.05$).

Gruplar arasındaki gebelik oranları I. Grupta %40.0, II. Grupta %33.3 ve III. Grupta %50.0 olarak belirlendi. Gruplarda gebelik oranları bakımından istatistiksel yönden önemli bir fark belirlenmedi ($p>0.05$). Gruplardaki ikizlik ve üçüzlük oranlarının değerlendirilmesi sonucu Grup I'deki 3 koyunda ikizlik, 1 koyunda üçüzlük belirlenirken, Grup II'deki 2 koyunda ikizlik 1 koyunda tekizlik belirlendi. Grup III'te ise yalnızca tekizlik tespit edildi *(Tablo 1)*.

Yapılan çalışmada vaginal sünger uygulamasından 21 gün sonra uygulama grupları ile kontrol grubu arasında ortalama plazma MDA değerlerinin $p<0.05$ ile istatistiksel anlamda önemli olduğu belirlenmiştir. Kontrol grubunda gebe ve gebe olmayan koyunlar arasında vaginal sünger uygulamasından 28 gün sonra plazma MDA düzeylerinde istatistiksel bir fark belirlenmiş ($p<0.05$), diğer zamanlarda ise önemli bir fark tespit edilmemiştir *(Tablo 2)*.

Tablo 1. *Gruplardaki östrus oranı, östrus görülme zamanı ve gebelik oranı*
Table 1. *Oestrus rates, oestrus time and pregnancy rates in groups*

Grup	Östrus oranı (%)	Östrus görülme zamanı (Saat; X±S)	Gebelik/ Östrus (%, n)	Gebelik oranları (%, n)	Tekiz (%, n)	İkiz (%, n)	Üçüz (%, n)	Çoğul gebelik (%, n)
Grup I (n:10)	90.0 (9/10)	51.4±6.1*	44.4 (4/9)	40.0 (4/10)	50.0 (2/4)	25.0 (1/4)	25.0 (1/4)	50.0 (2/4)
Grup II (n:9)	88.9 (8/9)	47.4±7.4*	37.5 (3/8)	33.3 (3/9)	33.3 (1/3)	66.6 (2/3)	0.0	33.3 (2/3)
Grup III (n:10)	100.0 (10/10)	55.8±15.9*	50.0 (5/10)	50.0 (5/10)	100 (5/5)	0.0	0.0	0.0

**p>0.05*

Tablo 2. *Gruplardaki plazma MDA düzeyleri (nmol/ml)*
Table 2. *Plasma MDA levels (nmol/ml) in groups*

Zaman	Grup I			Grup II			Grup III		
	Gebe (X±S)	Gebe değil (X±S)	Ortalama (X±S)	Gebe (X±S)	Gebe değil (X±S)	Ortalama (X±S)	Gebe (X±S)	Gebe değil (X±S)	Ortalama (X±S)
1 hafta önce	3.22±0.2	3.43±0.3	3.35±0.3	2.66±0.5	2.68±0.3	3.54±0.3	2.37±0.4	2.72±0.6	2.91±0.3
0. gün	3.48±0.8	3.62±0.3	3.57±0.5	3.51±0.1	3.43±0.4	3.52±0.3	3,43±0.3	3.67±0.6	3.51±0.5
4. gün	2.74±0.5	2.55±0.3	2.62±0.4	2.66±0.5	2.69±0.3	2.64±0.4	2.37±0.4	2.88±0.8	2.62±0.7
12. gün	3.62±0.1	3.97±0.5	3.85±0.5	4.16±0.6	3.59±0.6	3.86±0.6	4.33±0.7	3.96±0.6	4.10±0.7
21. gün	1.87±0.2	2.24±0.5	[a]2.10±0.4	2.49±0.6	2.11±0.5	[a]2.16±0.5	1.84±0.3	1.45±0.3	[b]1.67±0.4
28. gün	3.66±0.5	3.66±0.4	3.66±0.4	3.53±0.4	3.86±0.3	3.72±0.4	*3.29±0.3	*3.79±0.3	3.51±0.4

**p<0.05;* *[a:b]p<0.05*

TARTIŞMA ve SONUÇ

Koyunlarda mevsim dışı dönemde üremenin kontrolü amacıyla daha çok progestagenler ve PMSG hormonları kullanılmaktadır [4-9,25,26]. Bu amaçla yapılan bir çalışmada Echtencamp ve ark.[9], aşım sezonundaki ve anöstrus dönemindeki koyunlarda %100 oranında östrus belirlemişlerdir. Aynı araştırıcılar, anöstrus dönemindeki gebelik oranını (%76) üreme mevsimindeki koyunlara (%100) göre daha düşük oranda bulmuşlardır. Anöstrus dönemindeki Tuj ırkı koyunlarda yapılan bir çalışmada MAP (Medroksiprogesteron asetat) içeren vaginal süngerlerin uygulanması sonucu %60 oranında östrus, %30 oranında gebelik elde edilmiştir. Aynı çalışmada MAP uygulamasına ilave olarak PMSG enjeksiyonu ile östrus (%80) ve gebelik (%70) oranlarının artığı belirlenmiştir. Kontrol grubundaki koyunlarda ise herhangibir seksüel aktivite görülmemiştir [27]. Çalışmamızda saptanan östrüs oranlarının, Bekyürek [27]'in anöstrus dönemindeki Tuj koyunlarında MAP ve PMSG uygulamaları ile yaptığı çalışmadaki sonuçlara göre daha yüksek olduğu, buna karşın gebelik oranlarının daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Çalışmalardaki östrus ve gebelik oranları arasındaki bu değişikliklerin koyunların beslenme durumları ve gün ışığı süresinin etkisine bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Pathiraja ve ark.[28] koyunlarda yaptıkları çalışmada antiöstrojen serumu enjeksiyonundan 0.5-3.0 saat sonra FSH konsantrasyonunda sınırlı bir artış sağlanırken, LH miktarında belirgin bir artış olduğunu ve ovulasyon oranının artığını bildirmişlerdir. Senkronize edilen ineklerde 1.5 standart dozda ovine testosteron antiserumu uygulamalarının bazı hayvanlarda ovulasyon oranını artırdığı belirlenirken, bazı hayvanlarda ise ovulasyonu bloke ettiği görülmüştür. Aynı çalışmada 4.5, 6 ve 7.5 IU standart dozda antitestosteron antiserumu uygulamalarının 1 ve 1.5 IU standart dozdaki uygulamalara göre ovulasyon oranını artırdığını belirlemişlerdir [29]. Antitestosteron, antiöstradiol, antiöstrojen antiserumlarının ineklerde pasif immunizasyonu sağlandığı ve fertilite oranlarını artırdığı belirtilmektedir [28]. Clayton ve ark.[10] ineklerde yaptıkları çalışmada, koyun antitestosteron antiserumu kullanılarak ovulasyon oranın artırıldığını ancak uygulama yollarında farklı sonuçlar alındığını bildirmişlerdir. Özellikle derialtı uygulamalarda, damar içi ve kombine uygulamalara göre daha iyi sonuçlar alındığını bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada 1.5 IU standart dozda testosteron antiserumu (1/150 titrasyon-10 µl) uygulamaları sonu-

cunda Grup I ve Grup II'deki koyunlarda gebelik oranının kontrol grubu koyunlara göre daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu durum, Morris ve ark.[29]'nın belirttiği gibi uygulanan testosteron antiserumunun standart dozlarının düşük olabileceği şeklinde açıklanabilir. Ayrıca bu çalışmada çoğul gebeliklerin yalnızca Grup I ve Grup II'deki koyunlarda belirlenmesi, testosteron antiserumu uygulamaları ovulasyon oranını artırmaktadır şeklindeki görüşleri destekler niteliktedir [11,28-30].

Beta-karoten yönünden yeterli diyetle beslenen hayvanlarda ovulasyon, östrus aralığı ve corpus luteumun normal seyrinde şekillendiği, β-karoten yönünden yetersiz rasyonla beslenen hayvanlarda ise fertilite parametrelerinde aksaklıklar olduğu tespit edilmiştir [31]. Aynı şekilde, farklı dozlarda β-karoten uygulamasının hayvanlarda gebe kalma oranını artırdığı saptanmıştır [32]. Özpınar ve ark.[33] koyunlarda 20 gün aralıklarla β-karoten enjeksiyonlarının ilk tohumlamada gebe kalma oranını, yavru verimini ve ikizlik oranını artırdığını belirlemişlerdir. Aynı şekilde E vitamini eksikliğine bağlı olarak fötal rezorpsiyon ve ölü doğum şekillendiği bildirilmektedir [19,20]. Yapılan bu çalışmada da yukarıdaki araştırıcıları destekler nitelikte β-karoten ve E vitamini enjekte edilen koyunlarda (Grup I) çoğul gebeliklerin (%50) göreceli olarak artığı saptanmıştır.

Yapılan araştırmalarda β-karoten uygulamalarının toksik oksijen radikallerini azaltığı ve buna bağlı olarak plazma MDA düzeylerini etkilediği bildirilmektedir [34,35]. Vitamin E'den yoksun rasyonlarla beslenen koyunlarda plazma MDA düzeyinin daha yüksek olduğu belirlenmiş ancak bu artışın istatistiksel bir farka yol açmadığı saptanmıştır [36]. Gebelik sırasında stres nedeniyle biyokimyasal değişikliklere bağlı olarak lipid peroksidasyon ürünü olan plazma MDA'nın artığı birçok araştırıcı tarafından bildirilmektedir [37-39]. Araştırıcılar MDA düzeyinin gebeliğin ikinci ve üçüncü döneminden sonra yükseldiğini saptamışlardır [35,40]. Başka bir çalışmada ise gebeliğin ilerlemesi ile plazma MDA düzeylerinde azalma tespit edilmiştir [41]. Yapılan bu çalışmada ise gruplardaki gebe koyunlarda plazma MDA düzeyleri arasında istatistiksel bir fark olmadığı görülmüştür. Tüm gruplardaki gebe koyunlarda plazma MDA düzeyinin belirlendiği ilk uygulamaya göre son uygulamalarda belirgin bir artış görülmüş ve bu artışın gebeliğin ilerlemesine bağlı olduğu düşünülmüştür. Gruplarda vaginal süngerlerin çıkarılmasından 21 gün sonra ortalama plazma MDA değerleri arasında istatistiksel bir fark belirlenmiş, Grup III'deki koyunlarda plazma MDA düzeylerinin daha düşük olduğu görülmüştür. Bu durum Uotila ve ark.'nın [41] belirttiği sonuçlar ile uyum içerisindedir. Grup III'de vaginal süngerlerin çıkarılmasından 28 gün sonra gebe koyunlarda plazma MDA seviyelerinin gebe olmayan koyunlara göre daha düşük olduğu belirlenmiş ve istatistiksel bir fark bulunmuştur ($p<0.05$). Bu durum yine Uotila ve ark.'nın [41] belirttiği gibi gebeliğin ilerlemesiyle plazma MDA düzeylerinde düşüş görülür bulgusunu desteklemektedir.

Sonuç olarak bu çalışmada üreme mevsimi dışındaki dönemde senkronize edilen Tuj ırkı koyunlarda testosteron antikoru, β-karoten ve E vitamini uygulamaları ile çoğul gebelikler elde edilmiş ancak bunun istenilen düzeyde olmadığı görülmüştür. Plazma MDA düzeylerinde ise önemli değişiklikler olmadığı belirlenmiştir. Bu sonuçlar, daha fazla sayıda koyunda multidisipliner bir yaklaşımla daha ayrıntılı çalışmalara gereksinim olduğunu ortaya koymaktadır.

KAYNAKLAR

1. **Akçapınar H:** Koyun yetiştiriciliği, Medisan Yayınevi, No: 8, Ankara, 1994.
2. **Geliyi C, İlaslan M:** Kars İli Çıldır İlçesi Doğruyol Köyünde yetiştirilen Tuj Koyunlarının döl, süt, ve yapağı verimleri ile ilgili bir araştırma. Gıda–Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, Kars Deneme ve Üretme İstasyonu Müdürlüğü, Yayın No: 6, Kars, 1978.
3. **Özcan L:** Koyunculuk. Tarım Orman ve Köy İşleri Bakanlığı, Yayın Dairesi Başkanlığı, Ankara, 343 (15): 113-114, 1990.
4. **Ozturkler Y, Colak A, Baykal A, Guven B:** Combined effect of Prostaglandin analogue and a Progestagen treatment for 5 days on oestrus synchronization in Tushin Ewes. *Indian Vet J,* 80, 917-920, 2003.
5. **Simonetti L, Blanco MR, Gardon JC:** Estrus synchronization in ewes treated with sponges im-pregnated with different doses of medroxyprogesterone acetate. *Small Rum Res,* 38, 243-247, 2000.
6. **Zarkawi M, Al-Merestani MR, Wardeh MF:** Induction of synchronized oestrus and early pregnancy diagnosis in Syrian ewes outside the breeding season. *Small Rum Res,* 33, 99-102, 1999.
7. **Rosado J, Silva E, Galina MA:** Reproductive management of hair sheep progesterone and gonadotropins in the tropics. *Small Rum Res,* 27, 237-242, 1998.
8. **Echtencamp SE, Lunstra DD:** Causes for desreased fertility in out-of-season mated ewes. *Theriogenology*, 10, 65-71, 1979.
9. **Emreli AZ, Horoz H, Tek Ç:** Merinos ırkı koyunlarda

mevsim dışı melatonin ve progesteron uygulamalarının östrus siklusunun uyarılması ve döl verimine etkisi. *İstanbul Üniv Vet Fak Derg,* 29 (2): 267-275, 2003.

10. **Clayton J, Rhind SM, Groves DJ, Morris BA:** Pharmacokinetic studies of passively administered ovine anti-testosterone antibodies given to cattle by the subcutaneous and intravenous routes. *Immunology*, 69 (4): 603-609, 1990.
11. **Land RB, Morris BA, Baxter G, Fordyce M, Foster J:** Improvement of sheep fecundity with antisera to gonadal steroids. *J Reprod Fertil,* 66, 625, 1982.
12. **Wise TH, Schanbacher BD:** Reproductive effects of immunizing heifers against androstenedione and oestradiol 17-β. J Reprod Fertil, 69, 605, 1983.
13. **Schweigert FJ, Zucker H:** Concentrations of vitamin A, β-carotene and vitamin E in individual bovine follicles of different quality. *J Reprod Fertil,* 82, 575-579, 1988.
14. **Peltier MM, Peltier MR, Sharp DC, Ott EA:** Effect of β-carotene administration on reproductive function of horse and pony mares. *Theriogenology*, 48, 893-906, 1997.
15. **Pusateri AE, Diekman MA, Singleton:** Failure of vitamin A to increase litter size in sows receiving injections at various stages of gestation. *J Anim Sci,* 77, 1532-1535, 1998.
16. **Talavera F, Chew BP:** Comperative role of retinol, retinoic acid and β-carotene on progesterone secretion by pig corpus luteum in vitro. J Reprod Fert, 82, 611-615, 1988.
17. **O'Fallon J, Chew BP:** The subcellular distrubition of β-carotene in bovine corpus luteum. *Exp Biol Med,* 177, 406-411, 1984.
18. **Burton GW, Ingold KU:** β-carotene: An unusual type of lipid antioxidant. *Scien*, 224, 569-573, 1984.
19. **Kott RW, Thomas VM, Hatfield PG, Evans T, Davis KC:** Effects of dietary vitamin E supplementation during late pregnancy on lamb mortality and ewe productivity. *J Am Vet Med Assoc,* 212 (7): 997-1000, 1998.
20. **Braun U, Forrer WF, Lutz H:** Selenium and vitamin E in blood sera of cows from farms with increased incidence of disease. *Vet Rec,* 128, 543-547, 1991.
21. **Prakash BS, Meyer HHD, Schallenberger E, Van De Wiel DFM:** Development of a sensitive enzymeimmunoassay (EIA) for progesterone determination in unextracted bovine plasma using the second antibody technique. *J Steroid Biochem,* 28 (6): 623-627, 1987.
22. **Meyer HHD, Güven B:** Improvement of microtitration plate Enzymeimmunoassay for steroid determination by second antibody technique. *J Steroid Biochem,* 25 (Suppl): 139, 1986.
23. **Van de Wiel, DFM, Koops W, Vos E:** Enzyme and radioimmunoassay techniques for hormone determination in livestock. Proceeding of symposium. *Nuclear and Related Techniques in Animal Production and Health.* Vienna. IAEA. SM-297/7: 243-253, 1986.
24. **Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K:** Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem,* 95, 351-358, 1979.
25. **Başţan A:** Akkaraman ırkı koyunlarda melatonin ve progesteron uygulamalarının reprodüktif performans üzerine etkileri. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, *Doktora Tezi,* Ankara, 1995.
26. **Alaçam E, Güler M, Dinç DA, Eröz S, Sezer AN:** Anöstrus dönemindeki koyunlarda ovariel aktivitenin Medroksiprogesteron Asetat (MAP) ve PMSG hormonu ile kontrol altına alınması üzerine çalışma. *Uludağ Univ Vet Fak Derg,* 5-6 (1-2-3), 1986-1987.
27. **Bekyürek T:** Anöstrus dönemindeki Tuj Koyunlarında östrusun uyarılması. *Tr J Veterinary and Anim Sci,* 18, 11-15, 1993.
28. **Pathiraja N, Carr WR, Fordyce M, Forster J, Land RB, Morris BA:** Concentration of gonadotrophins in the plasma of sheep given gonadal steroid antisera to raise ovulation rate. *J Reprod Fertil,* 72, 93-100, 1984.
29. **Morris BA, Rhind SM, Clayton J, Price CP, Webb R:** Passive immunisation of cows with ovine testosterone antiserum to increase ovulation rate. Antibody Development Group, Department Group, Department of Biochemistry, University of Surrery, Guildford, GU2 5XH, UK, 1988.
30. **Webb R, Land, RB, Pathıraja N, Morris BA:** Passive immunization against steroid hormones in the female. **In,** DB Crighton (Ed): Immunological Aspect of Reproduction in Mammals. 475. Butterworth, London, 1984.
31. **Özpınar H, Şenel HS, Özpınar A, Çekgül E:** İneklerde döl verimi ile serumdaki β-carotene, A ve E vitamin düzeyleri arasındaki ilişkiler. *Doğa Türk Vet Hay Derg,* 13, 273-282, 1998.
32. **Akonder FBY, Stone JB, Walton JS, Buchanon-Smith JG:** The role of β-carotene in the fertility of dairy cattle maintained in a confined environment. *J Dairy Sci,* 67, 148, 1984.
33. **Özpınar H, Şenel HS, Özpınar A, Çekgül E:** Pharmacokinetics of intramuscular administered β-carotene and its effects on reproduction in sheep. *Wien Tierärztl Monat,* 82, 229-231, 1994.
34. **Aten RF, Duarte KM, Behrman HR:** Regulation of ovarian antioksidant vitamins reduces glutatione and lipid peroksidation by luteinizing hormone and prostaglandin F2α. *Biol Reprod,* 46, 401-407, 1992.
35. **Edge R, Truscott TG:** Prooxidant and antioxidant reaction mechanism of carotene and radical interactions with vitamins E and C. *Nutr,* 13 (11-12): 992-994, 1997.
36. **Colitti M, Stradaioli G, Stefanon B:** Effect of α-Tocopherol deprivation on the involution of mammary gland in sheep. *J Dairy Sci,* 83, 345–350, 2000.
37. **Little RE, Gladen BC:** Levels of lipid peroxides in uncomplicated pregnancy: A review of the literature. *Reprod Toxic,* 13, 347-352, 1999.
38. **Madazlı R, Benian A, Gumustas K, Uzun H, Ocak V, Aksu F:** Lipid peroksidation and antioksidants in preeclampsia. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 85 (2): 205-208, 1999.
39. **Walsh SV:** Maternal-plasental interactionts of oxidative stres and antioxidants in preeclampsia. *Semin Reprod Endocrinol,* 16, 93-104, 1998.
40. **Carine D, Loverco G, Greko P, Capuna F, Selvaggi L:** Lipid peroxidation products and antioxidant enzymes in red blood cells during normal and diabetic pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 51, 103-109, 1993, 1993.
41. **Uotila J, Tuimala R, Aernio T, Ahotupa M:** Lipid peroxidation product, selenium dependent glutathione peroxidase and vitamin E in normal pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol,* 42, 95-100, 1991.