



**İLLE DE FRANCE KUZU RASYONLARINA
FARKLI DOZLARDA İLAVE EDİLEN MORİNGA
OLİFERA YAĞ EKTRESİNİN BEŞİ PERFORMANSI
VE ADİPOKİN (İRİSİN, APELİN), SEREBRAL
(BDNF), BMAL1, MELATONİN VE KORTİZOL
HORMONU YANITININ SİRKADİYEN DEĞİŞİMİ
ÜZERİNE ETKİSİ**

Şeref Hakan AKTÜRK

Yüksek Lisans Tezi

Organik Tarım İşletmeciliği

Ana Bilim Dalı

Doç. Dr. Bülent BAYRAKTAR

2024

(Her Hakkı Saklıdır)

T.C.
BAYBURT ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
ORGANİK TARIM İŞLETMECİLİĞİ ANA BİLİM DALI
ORGANİK TARIM İŞLETMECİLİĞİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**İLLE DE FRANCE KUZU RASYONLARINA FARKLI ORANDA İLAVE EDİLEN
MORİNGA OLİFERA YAĞ EKTRESİNİN BESİ PERFORMANSI VE ADİPOKİN
(İRİSİN, APELİN), SEREBRAL (BDNF), BMAL1, MELATONİN VE KORTİZOL
HORMONU YANITININ SİRKADİYEN DEĞİŞİMİ ÜZERİNE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Şeref Hakan AKTÜRK

Danışman: Doç. Dr. Bülent BAYRAKTAR

BAYBURT - 2024

KABUL VE ONAY

Doç. Dr. Bülent BAYRAKTAR danışmanlığında, Şeref Hakan AKTÜRK tarafından hazırlanan “İlle De France Kuzu Rasyonlarına Farklı Oranlarda Moringa Olifera Yağ Ektresi İlavesinin Besi Performansı ve Adipokin (İrisin, Apelin), Serebral (BDNF), BMAL1, Melatonin ve Kortizol Hormonu Yanıtının Sirkadiyen Değişimi Üzerine Etkisi” başlıklı bu çalışma, 28.09.2024 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak jürimiz tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Vecihi AKSAKAL

Üye : Doç. Dr. Bülent BAYRAKTAR

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Gülbahar BÜYÜK ÖZCAN

Bu tezin kabulü Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun/...../20... tarih ve 20...../.....-..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Murat KUL
Enstitü Müdürü

BEYANNAME

Bayburt Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre Doç. Dr. Bülent BAYRAKTAR danışmanlığında hazırlamış olduğum “İlle De France Kuzu Rasyonlarına Farklı Oranlarda Moringa Olifera Yağ Ektresi İlavesinin Besi Performansı ve Adipokin (İrisin, Apelin), Serebral (BDNF), BMAL1, Melatonin ve Kortizol Hormonu Yanıtının Sirkadiyen Değişimi Üzerine Etkisi” başlıklı doktora tezimin bilimsel etik değerlere ve kurallara uygun, özgün bir çalışma olduğunu, aksinin tespit edilmesi halinde her türlü yasal yaptırımını kabul edeceğimi beyan ederim.

26.08.2024

Şeref Hakan AKTÜRK

ÖN SÖZ

Yüksek lisans eğitimim süresi boyunca yardımlarını esirgemeyen, süreç boyunca bütün çalışma ve uğraşlarını bırakarak zaman ayıran, saygıdeğer danışman hocam Sayın Doç. Dr. Bülent BAYRAKTAR'a en içten teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Eğitim dönemi süresince katkıları için başta Prof. Dr. Vecihi AKSAKAL ve Organik Tarım İşletmeciliği Ana Bilim Dalı hocalarıma teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, istatistiksel analizlerle ilgili Doç. Dr. Emre TEKCE hocalarıma desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Desteklerini hiç esirgemeyen eşim ve aileme sonsuz teşekkürlerimi ve minnetlerimi sunuyorum.

Şeref Hakan AKTÜRK

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İLLE DE FRANCE KUZU RASYONLARINA FARKLI ORANDA İLAVE EDİLEN MORİNGA OLİFERA YAĞ EKTRESİNİN BESİ PERFORMANSI VE ADİPOKİN (İRİSİN, APELİN), SEREBRAL (BDNF), BMAL1, MELATONİN VE KORTİZOL HORMONU YANITININ SİRKADİYEN DEĞİŞİMİ ÜZERİNE ETKİSİ

Şeref Hakan AKTÜRK

Bayburt Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Organik Tarım İşletmeciliği Ana Bilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Bülent BAYRAKTAR

Bayburt-2024, Sayfa: 86

Sirkadiyen ritim, organizmanın 24 saatlik bir döngü boyunca yaşadığı fiziksel, zihinsel ve davranışsal değişiklikler ile fizyolojik süreçlerin biyolojik ritmik aktivitelerdir. Sirkadiyen ritim, başta endokrin sistemi, sindirim sistemi etkisi nedeniyle büyüme performansı ile hayvanların sağlıklı büyümesi ve gelişimi için kritik öneme sahiptir. Işık döngüsündeki değişiklikler, stres faktörleri (yem ve su kısıtlaması, yüksek sıcaklık, hastalıklar) de sirkadiyen ritmi bozulmasına yol açan başlıca etmenlerdir. Sirkadiyen ritim bozulması, iştahı etkileyerek yem tüketiminde azalma ile hormon salınımını olumsuz etkileyerek kuzularda büyüme ve gelişmelerinde yavaşlama, immun sistemde zayıflama ile hastalıklara karşı direncin azalması ile üreme performansın düşmesi ve davranış bozukluklarının (aşırı hareketlilik, iştahsızlık vb.) şekillenmesine neden olabilmektedir. Bitkisel ekstraktlar, endokrin sistemi etkileyerek hormonların sirkadiyen salınımında ve sirkadiyen ritmin düzenlenmesinde önemli bir role sahiptir. Mucizevî besin olarak atfedilen Moringa olifera, antioksidan, antimikrobiyal etkileriyle geleneksel tamamlayıcı tıp alanında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çalışma, İlle de France kuzu rasyonlarına farklı dozlarda Moringa olifera yağ ekstresi ilavesinin adipokin (irisin, apelin), serebral (BDNF), BMAL1, melatonin kortizol hormonu yanıtının sirkadiyen değişiminin incelenmesidir. Bu kapsamda çalışmada 2.5 aylık yaşta 48 adet İlle de France ırkı erkek kuzu kullanılmış ve hayvanlar her biri 12 adet erkek kuzudan oluşan 1 kontrol, 3 deneme olmak üzere 4 grup düzenlenmiştir. Kuzu besi rasyonlarına sırasıyla M0 (kontrol), M200, M400 ve M600 ppm oranında Moringa olifera yağ ekstresi (MOE) ilave edilmiştir. Çalışma 2024 yılı Mart-Mayıs ayları arasında yürütülmüş ve 10 gün süreyle adaptasyon ve 60 gün süre ile besi denemesi olmak üzere toplamda 70 gün sürmüştür. Araştırma süresince doğal fotoperiyot (12 saat aydınlık; 12 saat karanlık), gece muayenesini kolaylaştırmak için 2 lüksten daha az üreten loş ışık sürekli olarak açık kaldı. Çalışma sirkadiyen ritmini değerlendirmek için araştırmanın 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerinde 07:00, 13:00, 19:00, 01:00, 07:00 zaman dilimlerinde kuzuların vena jugularis'inden kan

serum örnekleri alındı. Alınan kan numunelerinden elde edilen serum örneklerinde apelin, irisin, melatonin, Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), Beyin ve Kas ARNT-benzeri protein 1 (BMAL1) düzeyleri ELİSA yöntemiyle incelendi. Serum örnekleri, analiz gerçekleşinceye kadar -80 C°'de saklandı. Çalışmaya ait veriler IBM SPSS 22 Statistics programında verilerin normal dağılımı kontrol edilerek ortalama ve standart hata olarak belirtilmiştir. Elde edilen veriler general lineal model multivariate (apelin, irisin, melatonin, BDNF, BMAL1 ve kortizol) analizi yapılmıştır. Ortalamalar arasındaki farkları karşılaştırmak için Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi uygulanarak istatistik önemlilik değeri p değeri <0,05 anlamlı olarak kabul edildi. Çalışma BMAL1 (saat:13:00), irisin, melatonin (Saat 01:00) değerleri üzerine incelendiğinde M400 katkı dozunda saat 19:00'da 60 günde etkili olurken, apelin (saat 19:00) M600 dozunda saat 13:00'de 60 günde en iyi sonuçlar elde edilmiştir. BDNF üzerine M200 dozunda saat 19:00 ile 13:00'de 60 günde elde edilirken canlı ağırlık üzerine M400 dozunda ve canlı ağırlık artışı linear olarak artış göstererek 60. günde en iyi sonuçlar elde edilmiştir. Besi performansı bakımından değerlendirdiğimizde dönemsel olarak gruplar arasında farklılık olsa da besi başlangıcı ve besi sonu arasında CAA ve yem tüketimi üzerine rasyona MOE ilavesinin etkisinin olmadığı ancak CA üzerine M400 gruplar, yemden yararlanma üzerine ise M200 gruplarda en iyi sonuçlar elde edilmiştir. Sonuç olarak M400 dozu 60. günde MOE uygulamasının güvenli olmasının yanı sıra sirkadiyen ritim düzenleyicisi protein BMAL1 ve melatonin hormonu ile VKS düzenleyici rolü irisin hormonu düzeyleri üzerinde etkili olduğu, en yüksek canlı ağırlık düzeyi üzerinde etkili ve faydalı olabileceği kanaatine varılmıştır. Ayrıca, Apelin hormon düzeyinin ölçülmesi, glukoz, insülin ve enerji metabolizmasındaki rolü nedeniyle beslenmenin etkisi; İrisin, vücut kondüsyon skoru (VKS) düzenleyici rolü nedeniyle beslenmeye bağlı canlı ağırlık ve VKS değerlendirilmesi, melatonin, sirkadiyen ritim düzenleyici hormon olması nedeniyle sirkadiyen, BDNF, serebral yanıtın incelenerek değerlendirilmesine katkı sağlayabileceğini düşünmekteyiz. Ancak, bu alanda daha kapsamlı ve moleküler düzeyde araştırmaların yapılmasının gerekli olduğu, sirkadiyen ritim düzenleyicisi BMAL1'in sirkadiyen ritim süreçlerinin değerlendirilerek uygulanacak besleme programlarının oluşturulması, etkinliği ve besi performans yönetimi süreçlerinde faydalı olabileceği kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Sirkadiyen ritim, irisin, BDNF, BMAL1, moringa olifera, kuzu besisi.

ABSTRACT

M. SC. THESIS

EFFECT OF MORINGA OLIFERA OIL EXTRACT ADDED TO LAMB RATIONS AT DIFFERENT RATIOS ON FATTENING PERFORMANCE AND CIRCADIAN CHANGE OF ADIPOKINE (IRISIN, APELIN), CEREBRAL (BDNF), BMAL1, MELATONIN AND CORTISOL HORMONE RESPONSE

Şeref Hakan AKTÜRK

Bayburt University

Institute of Graduate Studies

Department of Organic Agriculture Management

Thesis Advisor: Assoc. Prof. Dr. Bülent BAYRAKTAR

Bayburt-2024, Pages: 86

Circadian rhythm is the biological rhythmic activities of physiological processes and physical, mental and behavioral changes experienced by the organism throughout a 24-hour cycle. Circadian rhythm is of critical importance for growth performance and healthy growth and development of animals, primarily due to its effect on the endocrine system and digestive system. Changes in the light cycle and stress factors (feed and water restriction, high temperature, diseases) are also the main factors that cause circadian rhythm disruption. Circadian rhythm disruption can affect appetite, reduce feed consumption, negatively affect hormone release, slow down growth and development in lambs, weaken the immune system, reduce resistance to diseases, reduce reproductive performance and cause behavioral disorders (excessive mobility, loss of appetite, etc.). Herbal extracts have an important role in the circadian release of hormones and the regulation of circadian rhythm by affecting the endocrine system. *Moringa olifera*, attributed as a miraculous food, is widely used in traditional complementary medicine with its antioxidant and antimicrobial effects. This study is to investigate the circadian changes in adipokine (irisin, apelin), cerebral (BDNF), BMAL1, melatonin cortisol hormone response to the rations of Ile de France lambs with different doses of *Moringa olifera* oil extract. In this context, 48 male Ile de France lambs aged 2.5 months were used in the study and the animals were arranged in 4 groups, 1 control and 3 trials, each consisting of 12 male lambs. *Moringa olifera* oil extract (MOE) was added to the lamb fattening rations at the rates of M0 (control), M200, M400 and M600 ppm, respectively. The study was conducted between March and May 2024 and lasted 70 days in total, including 10 days of adaptation and 60 days of fattening trial. During the study, natural photoperiod (12 hours of light; 12 hours of darkness) was continuously on, and dim light producing less than 2 lux was continuously on to facilitate night examination. In order to evaluate the study circadian rhythm, blood serum samples were taken from the jugular vein of lambs at 07:00, 13:00, 19:00, 01:00, 07:00 on the 0th, 15th, 30th, 45th and 60th days of the study. Apelin, irisin, melatonin, Brain derived neurotrophic factor (BDNF), Brain and Muscle ARNT-like

protein 1 (BMAL1) levels in the serum samples obtained from the blood samples were examined by ELISA method. Serum samples were stored at -80 C° until analysis. Data belonging to the study were expressed as mean and standard error by checking the normal distribution of the data in IBM SPSS 22 Statistics program. The obtained data were analyzed by general linear model multivariate (apelin, irisin, melatonin, BDNF, BMAL1 and cortisol). Duncan's multiple comparison test was applied to compare the differences between the means and statistical significance value p value <0.05 was accepted as significant. When the study was examined on BMAL1 (time: 13:00), irisin, melatonin (time 01:00) values, while M400 additive dose was effective at 19:00 in 60 days, apelin (time 19:00) was effective at M600 dose at 13:00 in 60 days. While it was obtained on BDNF at M200 dose between 19:00 and 13:00 in 60 days, the best results were obtained in M400 dose on live weight and live weight gain increased linearly in 60 days. As a result, it was concluded that the M400 dose MOE application on the 60th day is safe, and it is effective on the levels of the circadian rhythm regulator protein BMAL1 and the melatonin hormone and the irisin hormone with its role in VKS regulation, and that it may be effective and beneficial on the highest live weight level. In addition, we think that the measurement of the Apelin hormone level can contribute to the effect of nutrition due to its role in glucose, insulin and energy metabolism; the evaluation of live weight and VKS due to the regulatory role of irisin, body condition score (BCS), and the examination and evaluation of melatonin, circadian, BDNF, and cerebral response due to its role as a circadian rhythm regulator hormone. However, it was concluded that more comprehensive and molecular studies should be conducted in this field, and that the circadian rhythm regulator BMAL1 may be useful in the establishment of feeding programs to be implemented by evaluating the circadian rhythm processes, their effectiveness and in the fattening performance management processes.

Keywords: Circadian rhythm, irisin, BDNF, BMAL1, moringa olifera, lamb fattening.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY.....	II
BEYANNAME.....	III
ÖN SÖZ.....	IV
ÖZET.....	V
ABSTRACT.....	VII
İÇİNDEKİLER.....	IX
TABLOLAR.....	XII
ŞEKİLLER.....	XIII
SİMGELER.....	XIV
KISALTMALAR.....	XV
GİRİŞ.....	1
Araştırmanın Konusu ve Problemi	1
Araştırmanın Amacı	1
Araştırmanın Önemi ve Gerekçesi	2
Araştırmanın Sınırlılıkları	2
Varsayımlar	2
Terim ve Tanımları.....	2
BİRİNCİ BÖLÜM.....	3
1. KURAMSAL ÇERÇEVE	3
1.1. SİRKADİYEN RİTİM	3
1.2. İLLE DE FRANCE KOYUN IRKI.....	4
1.3. MORİNGA OLEİFERA.....	5
1.4. ADİPOZ DOKU VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ.....	9
1.5. APELİN HORMON FİZYOLOJİSİ VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ	10
1.6. İRİSİN HORMONU FİZYOLOJİSİ VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ.....	13
1.7. MELATONİN HORMON FİZYOLOJİSİ VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ.....	14
1.8. BEYİN KAYNAKLI NÖROTROFİK FAKTÖR (BDNF) FİZYOLOJİSİ VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ	17
1.9. BEYİN VE KAS ARNT BENZERİ PROTEİN 1 (BMAL1) FİZYOLOJİSİ VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ	21
1.10. KORTİZOL HORMON FİZYOLOJİSİ VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ	23
İKİNCİ BÖLÜM	27
2. YÖNTEM	27
2.1. MATERYAL.....	27
2.1.1. Araştırma Alanı	27
2.1.2. Hayvan Materyali	28

2.1.3. Hayvan Barınağı	31
2.1.4. Yem Materyali	31
2.1.5. Moringa Olifera Yağ Ekstresi İçerik Analizi.....	32
2.2. ARAŞTIRMA YÖNTEMİ	33
2.2.1. Canlı Ağırlık Artışı Hesaplanması.....	33
2.2.2. Yem Tüketiminin Belirlenmesi	33
2.2.3. Yem Değerlendirme Oranları	33
2.2.4. Nabız, Solunum Sayısı ve Vücut Sıcaklığı Ölçümü	34
2.2.5. Serum Örneklerinin Alınması.....	34
2.2.6. Apelin Hormon Düzeyinin Ölçümü.....	34
2.2.7. İrisin Hormon Düzeyinin Ölçümü	36
2.2.8. Melatonin Hormon Düzeyinin Ölçümü	38
2.2.9. Beyin ve Kas ARNT-Benzeri Protein 1 (BMAL1) Düzeyinin Ölçümü.....	40
2.2.10. Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF) Düzeyinin Ölçümü.....	42
2.2.11. Kortizol Düzeyinin Ölçümü	44
2.2.12. İstatistiksel Analiz	46
ÜÇÜNCÜ BÖLÜM.....	47
3. BULGULAR.....	47
3.1. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT CANLI AĞIRLIK DEĞİŞİMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	47
3.2. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT YEM TÜKETİM ORANININ DEĞERLENDİRİLMESİ.....	47
3.3. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT CANLI AĞIRLIK ARTIŞLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ.....	48
3.4. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT YEMDEN YARARLANMA ORANININ DEĞERLENDİRİLMESİ.....	49
3.5. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SERUM APELİN DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	50
3.6. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SERUM İRİSİN DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	52
3.7. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SERUM MELATONİN DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	54
3.8. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SERUM BMAL1 DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	56

3.9. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SERUM BDNF DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ	57
3.10. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SERUM KORTİZOL DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ	60
3.11. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT NABIZ VERİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ ..	62
3.12. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SOLUNUM SAYISI VERİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ	64
3.13. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT VÜCUT SICAKLIĞI VERİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ	66
SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER.....	68
Sonuç	68
Tartışma	69
Öneriler	74
KAYNAKÇA.....	76
EKLER	84
Ek 1: Deney Hayvanları İle Çalışma İzin Formu	84
Ek 2: Çalışma İzin Formu.....	85
ÖZ GEÇMİŞ	86

TABLÖLAR

Tablo 1: Moringa'nın Fitobileşenleri ve İlgili Terapötik Etkileri	7
Tablo 2: Moringa'nın Fitobileşenleri ve İlgili Terapötik Etkileri	9
Tablo 3: Çalışmanın Hormon ve Fizyolojik Parametrelerinin Sirkadiyen Değişimlerin İncelendiği Günlere Ait İklim Verileri ve Karşılaştırılmaları	29
Tablo 4: Rasyon Besin Madde İçeriği ve Analizleri (g/kg).....	32
Tablo 5: Moringa Olifera Ekstresinin Fitokimyasal Analizlerinin Sonuçları	32
Tablo 6: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Canlı Ağırlık Değerlerinin Değişimi (Ort±SD).....	47
Tablo 7: Çalışma Gruplarına Ait Yem Tüketimi Değerlerinin Değişimi (Ort±SD).....	48
Tablo 8: Çalışma Gruplarına Ait Canlı Ağırlık Artışları Değerlerinin Değişimi (Ort±SD)....	49
Tablo 9: Çalışma Gruplarına Ait Yemden Yararlanma Oranı Değerlerinin Değişimi (Ort±SD).....	49
Tablo 10: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Farklı Gün ve Saatlerinde Kan Alma Dönemlerine Ait Ortalama Serum Apelin (ng/ml) Değerlerinin Değişimi (Ort±SD).....	51
Tablo 11: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Farklı Gün ve Saatlerinde Kan Alma Dönemlerine Ait Ortalama Serum İrisin (ng/ml) Değerlerinin Değişimi (Ort±SD)	53
Tablo 12: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Farklı Gün ve Saatlerinde Kan Alma Dönemlerine Ait Ortalama Serum İrisin (ng/ml) Değerlerinin Değişimi (Ort±SD)	55
Tablo 13: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Farklı Gün ve Saatlerinde Kan Alma Dönemlerine Ait Ortalama Serum Melatonin (ng/ml) Değerlerinin Değişimi (Ort±SD)	56
Tablo 14: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Farklı Gün ve Saatlerinde Kan Alma Dönemlerine Ait Ortalama Serum BDNF (ng/ml) Değerlerinin Değişimi (Ort±SD).....	59
Tablo 15: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Farklı Gün ve Saatlerinde Kan Alma Dönemlerine Ait Ortalama Serum Kortizol Hormon (ng/ml) Değerlerinin Değişimi (Ort±SD).....	61
Tablo 16: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Nabız Değerlerinin Değişimi (Ort±SD).....	63
Tablo 17: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Solunum Sayısı Değişimi (Ort±SD).....	65
Tablo 18: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Solunum Sayısı Değişimi (Ort±SD).....	67

ŞEKİLLER

Şekil 1: İlle de France Koyun Irkına Ait Fiziki Özellikler.....	5
Şekil 2: Moringa Olifera Ağacı, Yaprakları, Çiçekleri, Kozaları ve Tohumlarına Ait Görünüm.....	6
Şekil 3: Kahverengi, Beyaz ve Parlak/Bej Yağ Hücrelerinin Görünümleri.....	9
Şekil 4: Apelin Hormonu 3 Boyutlu Molekül Yapısının Görünümü.....	10
Şekil 5: İrisin Hormonu 3 Boyutlu Molekül Yapısının Görünümü	13
Şekil 6: Melatoin Hormonu (cTnI) 3 Boyutlu Molekül Yapısının Görünümü	15
Şekil 7: Melatonin Kimyasal Yapısı	15
Şekil 8: Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF) 3 Boyutlu Molekül Yapısının Görünümü.....	18
Şekil 9: Beyin ve Kas Arnt Benzeri Protein 1 (BMAL 1) 3 Boyutlu Molekül Yapısının Görünümü.....	21
Şekil 10: Kortizol Hormonu 3 Boyutlu Molekül Yapısının Görünümü	24
Şekil 11: Araştırma Alanı Lokasyonu Haritası	27
Şekil 12: Araştırma Alanı Besi Denemesinin Gerçekleştiği İşletmenin Görüntüsü	27
Şekil 13: Çalışma Gruplarının Oluşturulmasına Yönelik Bir Görünüm.....	30
Şekil 14: Apelin Hormon Test Kitinde Standart Dilüsyon Oluşturulması.....	35
Şekil 15: İrisin Hormon Test Kitinde Standart Dilüsyon Oluşturulması	37
Şekil 16: Melatonin Hormon Test Kitinde Standart Dilüsyon Oluşturulması	39
Şekil 17: BMAL1 Test Kitinde Standart Dilüsyon Oluşturulması	41
Şekil 18: BDNF Test Kitinde Standart Dilüsyon Oluşturulması	43
Şekil 19: Kortizol Hormon Test Kitinde Standart Dilüsyon Oluşturulması	45

SİMGELER

%	: Yüzde
µl	: Mikrolitre
µl	: Mikrolitre
°C	: Santigrat Derece



KISALTMALAR

agrp	: Agouti ile İlişkili Peptid
AMPK	: Protein Kinaz
BDNF	: Serebral
BMAL1	: Beyin ve Kas ARNT-Benzeri 1
Ca	: Kalsiyum
Cl	: Klorür
Cart	: Kokain ve Amfetaminle Düzenlenen Transkript
CRH	: Kortikotropin Salgılayan Hormon
Fe	: Demir
g	: Gram
K	: Potasyum
kDa	: Kilo Dalton
mg	: Miligram
Mg	: Magnezyum
ml	: Mililitre
Na	: Sodyum
ng	: Nanogram
ng/ml	: Nanogram/Mililitre
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
P	: Fosfor
P70S6K	: P70 Ribozomal Protein S6 Kinaz
p75NTR	: p75 Nörotrofin Reseptörü
PI3K/Akt	: Fosfatidilinositol 3-Kinaz/Protein Kinaz B
Pomc	: Proopiomelanokortin
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SCN	: Suprakiasmatik Çekirdeği
TrkB	: Kinaz B

GİRİŞ

Araştırmanın Konusu ve Problemi

Modern koyun yetiştiriciliğinde işletmelerin ekonomik başarısı, anaç koyun başına büyütülen sağlıklı kuzu sayısı oranının arttırılması ve üretim giderlerinin azaltılmasına bağlıdır. Karlı ve sürdürülebilir küçükbaş hayvancılık için yavru ölümlerinin azaltılması konusu hayvancılık sektörünün önemli araştırma konusu ve problemleri içerisinde yer almaktadır. Kuzu ölümlerinin azaltılması, kuzuların sağlığını olumlu yönde etkileyen bitkilerden elde edilen sağlık açısından zarar vermeyen alternatif ürünlerin belirlenerek hayvancılık sektöründe besicilik açısından kullanıma kazandırılması önemli bir konudur. Araştırmanın konusunu oluşturan mucizevî bitki olarak adlandırılan Moringa oleifera dünya çapında tropikal ve subtropikal bölgelerde yaygın olarak yetiştirilen antioksidan, antimikrobiyal ve antienflamatuar etkileriyle geleneksel tamamlayıcı tıp alanında yaygın olarak kullanılmaktadır. Sirkadiyen ritim, canlıların sağlıklı büyümesi ve gelişiminde kritik bir öneme sahiptir. Kuzu besisinde alternatif ürünler içerisinde antioksidan, antimikrobiyal gibi bir çok olumlu etkilere sahip tıbbi aromatik bitkiler yer almaktadır. Bu anlamda tıbbi ve aromatik bitkiler, kuzuların hormonal dengesini olumlu yönde etkileyerek kuzuların büyüme, gelişme ve verim performanslarının iyileştirilebilmesindeki etkileriyle beslenme stratejileri içerisinde hayvan ve insan sağlığına zarar vermeyen yeni alternatif tıbbi ve aromatik bitkilerin belirlenmesi hayvancılık sektöründe araştırma konularında önemli bir yer tuttuğu görülmektedir.

Araştırmanın Amacı

Sirkadiyen ritim düzenleyici Beyin ve Kas ARNT-Benzeri 1 (BMAL1) kuzularda sirkadiyen yanıtın incelenmesine olanak sağlayan yeni belirteçlerdir. Ayrıca apelin ve irisin, glukoz ve lipid metabolizması ve insülin sekresyonu üzerinde düzenleyici etkisi, irisin hormonu ayrıca irisin, kas sisteminin değerlendirilmesi ile metabolik hastalıkların değerlendirilmesine, kortizol hormonu kuzularda stres düzeyinin değerlendirilmesinde katkı sağlayabileceği ve faydalı olabileceği bildirilen parametredir. Yapılan literatür taramasında İle de France kuzu rasyonlarında Moringa olifera yağ ekstresi kullanımının adipokin (apelin, irisin, melatonin), serebral (BDNF), BMAL1, melatonin ve kortizol hormon yanıtın sirkadiyen değişiminin incelendiği araştırmaya rastlanılmamıştır. Bu araştırmanın amacı, İle de France kuzu rasyonlarına farklı dozlarda ilave edilen Moringa olifera yağ ekstresi ilavesinin besi

performansı ve adipokin (irisin, apelin), serebral (BDNF), BMAL1, melatonin ve kortizol hormonu yanıtının sirkadiyen değişimi üzerine etkisini incelemesidir. Ayrıca bu tez çalışmasında kuzu besisinin 0.,15.,30., ve 45. günlerinde tek bir ölçüm yerine farklı zaman dilimlerinde (07:00; 13:00; 19:00; 01:00 ve 07:00) sirkadiyen değişimlerinin incelenmesine dayalı bir kapsamlı ve karşılaştırma stratejisi ile değerlendirilecektir.

Araştırmanın Önemi ve Gerekçesi

Koyun yetiştiriciliğinde başarılı ve yüksek performans sergilemesi için kuzu besiciliğinde başarılı bir şekilde gerçekleştirilmesine bağlıdır. Kuzu besiciliğinde bitkisel ekstraktların kullanımı hem ekonomik hem de sağlık açısından önemli bir yere sahiptir. Araştırmanın gerekçesi, bitkisel ekstraktların immun sistemi, sindirim sistemi destekleyerek kuzuların hastalıklara karşı daha dirençli olmasına yardımcı olmaktadır. Diğer yandan içeriklerindeki antioksidan oranı yüksekliği sayesinde yoğun besi dönemlerinde yaşayabileceklerin stresin azaltılmasını sağlayarak kuzuların performansını arttırabilmektedir. Bitkisel ekstraktların kullanımı, kuzu etinin lezzetini ve kalitesini artırabilme potansiyeli ile bitkisel kaynakların kullanımı, kimyasal katkı maddelerine olan ihtiyacı azaltarak daha sürdürülebilir bir besicilik yöntemi sağlayabilme potansiyeli taşıyabilmesi nedeniyle kuzu beslenme programlarında istenilen performansın sağlanmasında önemli konulardır.

Araştırmanın Sınırlılıkları

Araştırmacının, çalışmasını sınırlayan bütün unsurları (zaman, teknik, malzeme vb.) rapor etmesi gereklidir. Araştırmanın sınırlılıkları kavramsal (tanımsal) bakımdan ve yöntem bakımından ifade edilebilir. Araştırmanın sınırlılıkları yazılırken tasarlanmak istenen ancak fiziki, mali ya da etik sorunlardan ötürü gerçekleştirilemeyen özellikler sunulmalıdır.

Varsayımlar

Varsayım bir araştırmada araştırmanın gerçekleştirilebilmesi için araştırmacının kabul ettiği yargılar ya da genellemelerdir. Varsayımlar yazılırken bulgular tarafından ortaya koyulabilecek ya da ispatlanabilecek ifadeler yazmaktan kaçınılmalıdır.

Terim ve Tanımları

Bu bölümde araştırmada sıkça geçen terim ya da tanımlar açıklanır. Böylelikle okuyucu için çalışmada terim ve tanımlar ile kast edilen anlamlar açıklığa kavuşturulur.

BİRİNCİ BÖLÜM

1. KURAMSAL ÇERÇEVE

1.1. SİRKADİYEN RİTİM

Dünya yüzeyinde yaşayan organizmalar, günlük güneş ışığı değişimleri sırasında fizyolojilerini optimize eden sirkadiyen ritimler tarafından düzenlenmektedir. Memelilerde bu, ışık yoğunluğu hakkında bilgiyi beyne ileten ve organizmanın çoğu hücresinde bulunan çevresel moleküler saatleri humoral sinyaller yoluyla senkronize eden retinadaki özel fotoreseptör hücreleri aracılığıyla elde edilmektedir (Dibner vd., 2010). Sirkadiyen ritim; dünyanın kendi eksenine etrafındaki 24 saatlik süreci neticesinde canlılarda görülen fizyolojik, biyokimyasal ve davranışsal ritimlerin tekrarından oluşan döngülerdir (Finger & Kramer, 2021). Sirkadiyen ritimler, memelilerde temel davranışsal (örn. uyku/uyanıklık döngüsü) ve fizyolojik (örn. metabolizma, hormon salgılanması ve kök hücre homeostazisi) süreçlerin koordinasyonu için gereklidir (Bechtold & Loudon, 2013; Lopez-Minguev vd., 2016; McAlpine & Swirski, 2016; Weger vd., 2017; Dierickx vd., 2018).

Hücresel düzeyde, sirkadiyen saat, doku ve organ ihtiyaçlarına uyum sağlamak için ritmik gen ifadesini sağlayan BMAL1, CLOCK, PER ve CRY proteinleri gibi saat ana düzenleyicilerini içeren transkripsiyonel ve translasyonel geri bildirim döngülerinden oluşmaktadır. Moleküler saat, kendi negatif düzenleyicileri PER1/2 ve CRY1/2 genlerinin transkripsiyonunu aktive eden çekirdek heterodimerik protein BMAL1-CLOCK'a dayanır ve dokuya özgü bir şekilde hücresel transkriptlerin %20'sine kadar olan ifadesinde günlük salınımlar üreten negatif bir geri bildirim döngüsü oluşturmaktadır (Huang vd., 2012). Sirkadiyen ritimler vücudun hemen hemen her hücresinde ve dokusunda bulunabilirken, memeli saatleri, ışığa duyarlı, melanopsin içeren retinal ganglion hücrelerinden günlük girdi alan hipotalamusun suprakiasmatik çekirdeği (SCN) tarafından senkronize edilmektedir (Dibner vd., 2010). SCN, nöronal ve humoral ipuçları ve çoğu organ ve dokunun hücrelerinde çalışan yerel osilatörlerin senkronizasyonu yoluyla sirkadiyen fizyolojiyi ve davranışı etkilemektedir (Mohawk vd., 2012).

CLOCK ve BMAL1, E-box elemanlarına bağlanan ve Per ve Cry genleri gibi çekirdek sirkadiyen saat bileşenlerinin ekspresyonu için vazgeçilmez olan bHLH-PAS içeren transkripsiyon faktörleridir. Ekspresyondaki önemli bir adım, CLOCK ve BMAL1'in heterodimerizasyonu ve yaklaşık 24 saatlik bir periyotla çekirdekte birikmesidir. Endojen

hücrel ritmiklik, sirkadiyen lokomotor çıkış döngüsü CLOCK, Bmal1, Per 1–3, Cry 1, Cry 2 ve Nr1d1 (Rev erb α olarak da bilinir) içeren bir dizi birbirine bağlı pozitif ve negatif geribildirim gen transkripsiyonu ve translasyon döngüsü tarafından SCN içinde üretilmektedir. Sistemin pozitif kolu iki transkripsiyon faktörü olan CLOCK ve BMAL1 tarafından üretilmektedir. Transkripsiyon ve translasyondan sonra, CLOCK ve BMAL1 proteinleri heterodimerize olur ve çekirdeğe taşınır ve promotörlerindeki CACGTG (E-box) motiflerine bağlanarak Per1, Per2, Cry1 ve Cry2 transkripsiyonunu indüklemektedir. PER ve CRY proteinlerini içeren bir kompleks daha sonra CLOCK/BMAL1'in eylemlerini inhibe ederek kendi transkripsiyonlarını etkili bir şekilde baskılamaktadır. Nr1d1 ve Rora (Ror α), BMAL1 promotöründe bulunan spesifik motifler aracılığıyla sırasıyla Bmal1 transkripsiyonunu baskılar ve uyarmaktadır. Bu moleküler geri bildirim döngüleri SCN'de ritmikliğin oluşturulması için kritik öneme sahipken, aynı zamanda karaciğer, adrenal, pankreas, kas ve yumurtalık gibi bir çok doku da ifade edilmektedir (Hastings vd., 2003, Fahrenkrug vd., 2006; Karman & Tischkau, 2006).

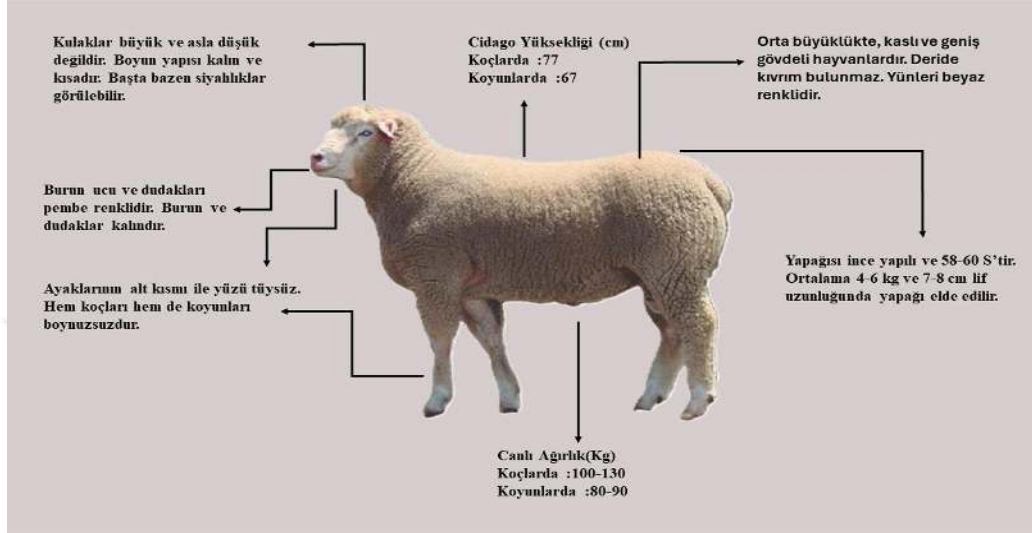
Sirkadiyen ritimler, uyku-uyanıklık döngüsü, vücut sıcaklığı düzenlenmesi, fiziksel ve zihinsel performans süreçlerindeki ritimlerde gözlenen ortalama 24 saat süren ritimlerdir. İnfradiyen ritimler, menstrual döngüde görülen 24 saatten daha uzun süren ritimlerdir. Sirkannular ritimler, duygu durumlarında gözlenen ve yaklaşık 1 yıllık ritimlerdir. Biyolojik ritimlerde süreler yönünden ultradiyan ritimde 20 saatten az; sirkadiyen ritimde 20-28 saat; infradiyan ritimde 28 saatten fazla; sirkaseptan ritimde 7 ± 3 gün; sirkadiseptan ritimde 14 ± 3 gün; sirkavijintan ritimde 21 ± 3 gün, sirkatrivijintan ritimde 30 ± 5 gün, sirkatidal ritimde 11-14 saat; sirkalunar ritimde 26-30 gün; sirannual ritimde 330-400 gün yaklaşık 1 yıllık süren döngüleri kapsamaktadır (Richter, 1975; Smolensky vd., 1999; Zucker, 2001; Schibler, 2005).

Sirkadiyen ritimler biyolojik süreçlerde, beslenmede, metabolizmada ve davranışsal eylemlerde rol oynamaktadır. Koyunlar gibi fotoperiyodik hayvanlar, fizyolojilerini ve davranışlarını, mevsimleri esas olarak gün uzunluğundaki değişikliklere uyum sağlayarak senkronize etmektedirler (Giannetto vd., 2010; Gianetto vd., 2016).

1.2. İLLE DE FRANCE KOYUN IRKI

İlle de france koyun ırkı, adını anavatanı olan ve Fransa'nın kuzeydoğusunda yer alan Île-de-France bölgesinden alan, ingiliz uzun yapağılı etçi ırkı Leichester ile Merinoslar arasında yapılan melezlemesi neticesinde elde edilen etçi koyun ırkıdır. Karakteristik olarak ise oldukça sakın bir koyun türü olmakla birlikte her türlü mera ve iklim koşulları ile ağıl

koyuncululuğuna yetiştirilmeye elverişlidir. İle de France koyunları, vücutları beyaz, derin, kısa ve kalın boyunlu, yapı olarak hem kaslı hem de geniş gövdeli göğüs yuvarlak ve geniş sırt ve bel geniş, kaslı yapısına (özellikle but bölgesinde) sahiptir. Boy olarak ele alındığında, orta boy büyüklükte olan bu koyunlar renk olarak beyaz renge sahiptirler (Şekil 1), (Akçapınar, 2000; Altın vd., 2005).



Şekil 1: İle de France Koyun Irkına Ait Fiziki Özellikler (Altın vd., 2005)

1.3. MORİNGA OLEİFERA

Moringa oleifera Lam., mucizevi ağaç, ben yağı, baget ağacı, davul çubuğu ağacı, yaban turpu ben yağı ve behen yağı farklı isimlerle bilinen mucizevi ağaç olarak adlandırılan, Hindistan'a özgü ve Asya, Afrika ve Güney Amerika'da tropik ve subtropikal bölgelerde yaygın olarak yetişen, *Moringaceae* familyasına ait hızlı büyüyen ve kuraklığa dayanıklı bir ağaçtır (Şekil 2). *Moringa oliferanın* taksonomik sınıflandırmadaki sistematik yeri (Mallenakuppe vd., 2015; Paikra & Gidwani, 2017) aşağıda verilmiştir:

Alem: Plantae

Sub kingdom: Tracheobionta

Super division: Spermatophyta

Division: Magnoliophyta

Phylum: Angiosperm

Classis: Dikotiledon

Ordo: Brassicale

Familya: Moringaceae

Genus: Moringa

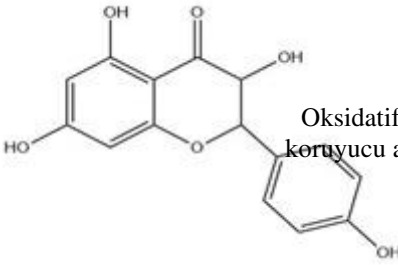
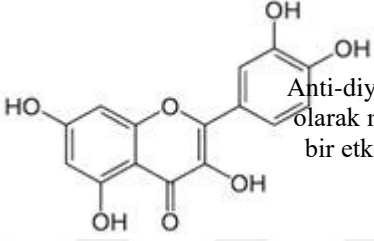
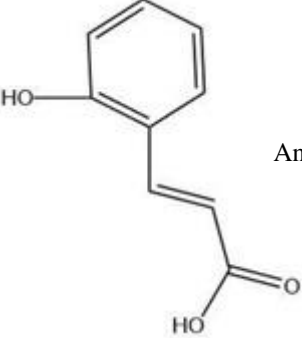
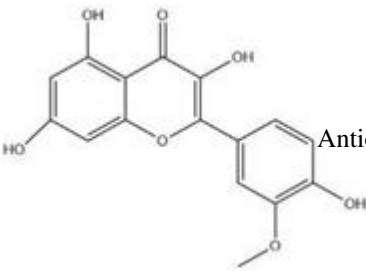
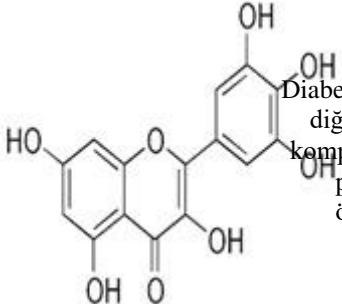
Species: Oleifera

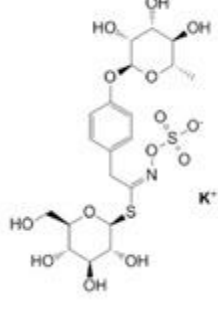
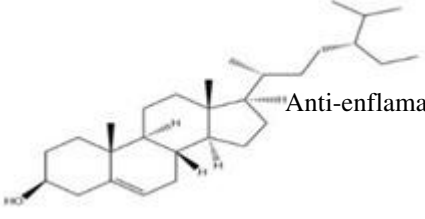
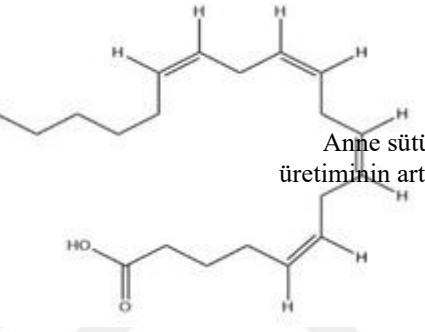
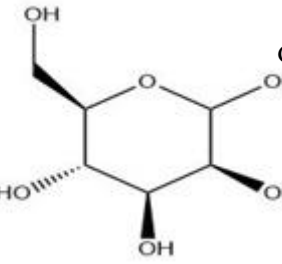
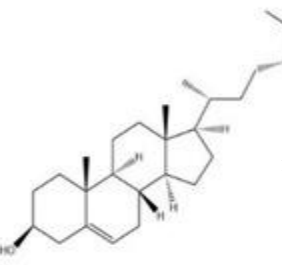


Şekil 2: Moringa Oleifera Ağacı, Yaprakları, Çiçekleri, Kozaları ve Tohumlarına Ait Görünüm (Anonim, 2024)

Moringa oleifera, esansiyel amino asitler, proteinler, mineraller, vitaminler ve polifenoller açısından yüksek bir içeriğe sahip bir besin olması nedeniyle en zengin gıda bitkileri arasında yer almaktadır. Flavonoidler, antosiyaninler, izotiyosiyanatlar, antrakinon, alkaloidler, uçucu yağlar, tannik asit, saponinler, steroidler, terpenoidler, kardiyak glikozitler gibi zengin bir fitokimyasal bileşikler içeriğinde barındırmaktadır (Şekil 3). Antioksidan, antimikrobiyal, antikanser, antidiyabetik, antienflamatuvar etkinin yanı sıra hepatoprotektif, antihipertansif, kolesterol düşürücü, anti-ürolitiazis, antifertilite amaçlarla kullanılmaktadır (Fahey, 2005; Parvathy & Umamaheshwari, 2007; Upadhyay vd., 2015; Cuellar-Núñez vd., 2021). Gıda endüstrisinde *Moringa oleifera*, çay, dondurma, jöle hazırlanmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Moringa yağının yağ asidi bileşimi, C18:1 ve C18:0 içeriği bakımından zeytinyağına oldukça benzemesi nedeniyle yenilebilir bir yağ olarak potansiyeline sahiptir. Ayrıca, su arıtımı, biyodizel olarak kullanımı, kozmetik sektörü gibi bir çok alanda kullanım alanı bulunmaktadır (Anwar & Bhanger, 2003). *Moringa oleifera* kullanımı hayvanlarda araştırmalar bulunmaktadır kuzularda büyüme oranını ve performansını iyileştirmek amacıyla bir katkı maddesi olarak önerildiğine yönelik bazı araştırmalar bulunmaktadır (Salem & Makkar, 2009).

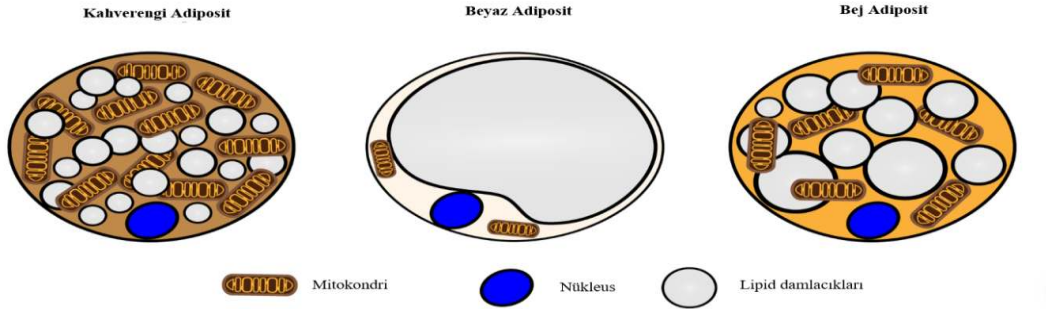
Tablo 1: Moringa'nın Fitobileşenleri ve İlgili Terapötik Etkileri

Bitki Parçası	Bileşik	Sınıf	Yapı	Terapötik Aktivite	Referans
Yaprak	Kaempferol (197.6 µg / g)	Flavonoid (Mantar)		Oksidatif hasar koruyucu aktivite.	(Singh vd., 2009)
Yaprak	Kuersetin (2030.9 µmol/100 g)	Flavonoid (Mantar)		Anti-diyabetik ajan olarak mükemmel bir etki gösterir.	(Ndong vd., 2007).
Yaprak	O kumarik asit (0.536 mg / g)	Fenolik asit		Antioksidan ve anti-mikrobiyal	(Zhang vd., 2011; Leone vd., 2015)
Yaprak	Isorhamnetin (0.118 mg / g)	Flavonoid (Mantar)		Antioksidan	(Riaz vd.,2018)
Tohum	Mirisetin(5 .804 mg/g)	Flavonoid (Mantar)		Diabetes mellitus ve diğer diyabetik komplikasyonların potansiyel önlenmesi	(Leone vd., 2015)

Tohum	Glukomotif	Glukozinolatlar		Anti-enflamatuar, ağrı kesici, antioksidan, antihipertansif.	(Borgonovo vd., 2020)
Tohum	β -sitosterol	Fitosterol		Anti-enflamatuar	(Liao vd., 2018)
Tohum	Araşidik asit	Yağ asidi		Anne sütü üretiminin artması	(Sarih vd., 2020).
Tohum	Oleik asit (a/a%70)	Yağ asidi		Kan basıncını düşürür ve hücreye serbest radikal hasarını azaltır.	(More vd., 2018).
Tohum	Palmitik asit	Yağ asidi		Tripanosidal ve anti-lösemik etki	(Korbecki vd., 2019).
Çiçek	D-mannoz	Karbonhidrat		Genetik kusurların neden olduğu eksiklik ve akut idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisi.	(Maurya & Singh, 2014).
Sap	β -sitosterol	Fitosterol		Antioksidan, kardiyovasküler, immünomodülatör	(Liao vd., 2018)

1.4. ADİPOZ DOKU VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ

Adipoz doku, diğer organ sistemlerindeki metabolik aktiviteyi etkileyen hormonlar üreterek endokrin sistem organı olarak görev yapar. Adipoz doku, adiposit, kondrosit, osteoblast veya miyositlere dönüşebilme kapasitesinde olan preadipositler, mezenşimal hücrelerden farklılaşan lipoblastlar (ya da adipositler), fibroblastlar, immun hücreler, kan damarlar ve kollejen lifler tarafından meydana getirilmiş bağ dokusu tipidir (Tablo 1), (Ahima & Flier, 2000).



Şekil 3: Kahverengi, Beyaz ve Parlak/Bej Yağ Hücrelerinin Görünümleri

Adipoz dokunun fonksiyonları ile lipid metabolizması sirkadiyen saat tarafından düzenlenmektedir (Chua vd., 2013). Adipoz doku yapısal olarak beyaz (uniloküler), kahverengi (multiloküler) ve bej yağ doku olmak üzere 3'e ayrılmaktadır (Awad & Bradford, 2010) (Tablo 2). Kahverengi yağ doku, termoregülasyon süreçlerinde (Wu vd., 2012), beyaz yağ doku, adipokinlerin salınımı, trigliserit metabolizması, yağ asitlerinin depolanması ve salınımında (Frühbeck vd., 2001; Rajala & Scherer, 2003; Trayhurn & Wood, 2005; Rosen & Spiegelman, 2006) bej yağ doku ise adaptif termogenez süreçlerinde rolü bulunmaktadır (Seale & Lazar, 2009; Reis, 2019).

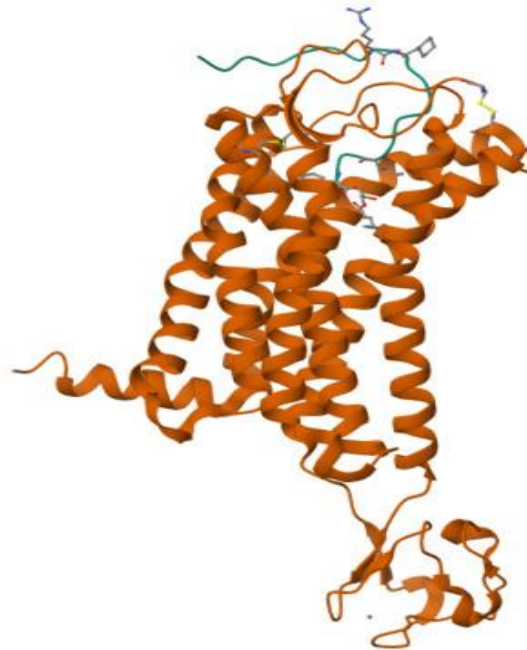
Tablo 2: Moringa'nın Fitobileşenleri ve İlgili Terapötik Etkileri

Parametreler	Parametreler	Beyaz	Bej
UCP1 Ekspresyonu	Pozitif	Negatif	pozitif
Mitokondriyal Yoğunluk	Yüksek	Düşük	Orta
LD Morfoloji	Multiloküler (Çok bölmeli)	Uniloküler (Tek Bölmeli)	Multiloküler (Çok bölmeli)
Primer Fonksiyonu	Termogenez, Endokrin	Enerji depolanması, Endokrin	Termogenez, Endokrin

Adipokinler, adipoz dokudan salgılanan adipokin adı verilen peptit hormonlar salgılanmaktadır. Adipokinlerin salınımı ve metabolizması sirkadiyen ritim etkisindedir. Bu nedenle adipokin salgısının zamanlaması, metabolizmanın günlük ritminin sürdürülmesinde kritik öneme sahiptir. Açlık-tokluk hormonları leptin ve ghrelin adipokinlerin çalışmalara rastlanılsa da apelin, irisin sirkadiyen değişimi ile düzenlenmesine ilişkin şu anda çok az şey bilinmektedir.

1.5. APELİN HORMON FİZYOLOJİSİ VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ

Apelin, yakın zamanda keşfedilen G proteinine bağlı reseptör APJ'nin endojen bir ligandı olarak adipoz dokudan salgılanan bir adipokindir (Tatemoto vd., 2001). Apelin geni Xq25-q26.3 kromozomunda yer alır. Apelin-36, apelin-17, apelin-13 ve apelin-12, apelin-15, apelin-17, apelin-19 ve apelin-36 gibi izoformları bulunmaktadır. Farklı aktif formlara bölünebilen, salgılayıcı bir sinyal dizisi içeren 77 amino asitli bir prepropeptid kodlanmaktadır. Apelin-36 en yaygın olarak ifade edilen formu olmakla birlikte apelin-13 ise etki yönünden daha güçlü ve dolaşımda daha yoğun miktarda bulunmaktadır (Tatemoto vd., 1998; Kurowska vd., 2018). Apelin-13'ün çevrilmiş N-terminal glutamin kalıntıları, glutamin siklaz tarafından katalize edilerek piroglutamidasyonu modifiye ederek apelin-13'ün [pyr1]-apelin-13'ün piroglutamid formunu üretir, bu da ekzopeptidaz tarafından parçalanmasını önleyerek daha uzun vadeli biyolojik aktivite göstermektedir (Habata vd., 1999).



Şekil 4: Apelin Hormonu 3 Boyutlu Molekül Yapısının Görünümü (Lin vd., 2022)

Apelin geni Xq25-q26.3 kromozomunda yer almaktadır. Apelin/APJ sistemi esas olarak beyaz yağ hücreleri tarafından sentezlenir ve salgılanır ve kardiyovasküler, iskelet, böbrek vb. gibi dokularda ifade edilir. Beyaz yağ dokusundaki ifadesi karaciğer, kas ve kahverengi yağ dokusundakinden daha yüksektir ve yağ hücrelerinin farklılaşmasıyla Apelin ifadesi de önemli ölçüde artmaktadır (Gao vd., 2021; Lin vd., 2022). Apelin, sıvı elektrolit dengesi, glikoz ve yağ metabolizması ve kardiyovasküler fonksiyon, immün sistem dahil olmak üzere çok çeşitli fizyolojik fonksiyonlarda ve süreçlerde önemli rolü bulunmaktadır (Gourdy vd., 2018; Zavala vd., 2020). Apelin oksidatif stres, inflamasyon, apoptoz ve enerji metabolizması gibi farklı biyolojik süreçlerin düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Cheng vd., 2012; Masoumi vd., 2020; Wang vd., 2022).

Apelin, sirkadiyen ritim, sıvı-elektrolit dengesi ve beslenme davranışının kontrolünü sağlayan paraventriküler nükleus'ta yoğun olarak bulunmaktadır (Schwartz vd., 2000; Reaux vd., 2001). Apelin, davranışsal, endokrin süreçlerin ve enerji homeostazının kontrolünde yer alan paraventriküler, arkuat ve supraoptik çekirdekler dahil olmak üzere farklı çekirdeklerde bulunmaktadır (Reaux vd., 2001).

Apelin/APJ sisteminin aktivasyonu, fosfatidilinositol 3-kinaz/protein kinaz B (PI3K/Akt), P70 ribozomal protein S6 kinaz (P70S6K), nitrik oksit sentez (NOS), AMP ile aktive olan protein kinaz (AMPK), reaktif oksijen türleri (ROS) ve diğer sinyal yolları dahil olmak üzere hücre içi sinyal moleküllerinin bir dizisini de tetikleyebilir ve nihayetinde hücresel işlevi düzenlemek için transkripsiyon faktörlerini hedef alır (Kleinz & Baxter, 2008; D'Aniello vd., 2009).

Gıda alımının kontrolünde apelinergic sistemin sirkadiyen yapıları etkilediği bildirilmektedir. Diğer taraftan melatonin hormonu ile apelin hormonunun etkileşimi üzerinden sirkadiyen ritim fizyolojisi üzerinde etkili olduğu bildirilmektedir (Zhang vd., 2019). Apelin-13, merkezi sinir sistemini düzenleyerek gıda alımını etkilemektedir (Lv vd., 2012).

Bayraktar vd. (2020a), akkaraman Kangal ve Morkaraman ırklarına koyunlara ait kan serumlarında apelin hormon düzeyi üzerine laktasyon, gebelik, cinsiyetin etkisinin belirlenmesi amacıyla vücut kondisyon skorları (<2, 3- 3.5 ve ≥ 4) farklı olan Akkaraman Kangal ve Morkaraman ırklarına ait gebe, gebe olmayan koyunlar ve koçların apelin hormon düzeyleri incelemişlerdir. Araştırmaları neticesinde koçlarda ırklara göre VKS'lerinde farklılık olduğu, ırk ile VKS arasında interaksiyonun önemli olduğunu, laktasyondaki koyunlarda apelin seviyesinin vücut kondisyon skorlarına göre değişmediği ($p>0.05$), buna

karşın ırklara göre farklılık gösterdiği ($p<0.05$); ancak gebe koyunlarda ırklara göre bir değişme göstermediği ($p>0.05$) tespit edilmiştir. Apelinin cinsiyet vücut kondisyon skoru, ırkın cinsiyete ve ırkın vücut kondisyon skoru interaksyonu açısından önemli olduğunu belirtmişlerdir.

Bayraktar vd. (2020a), farklı VSK'na (<2 , $3-3.5$ ve ≥ 4) sahip Akkaraman Kangal ve Morkaraman ırklarına ait gebe, gebe olmayan koyunlar ve koçların apelin hormon düzeyleri incelemişlerdir. Koyunların *Juguler vena*'dan alınan kan serum örneklerinde ELISA tekniği ile apelin hormon seviyesi belirlemişlerdir. Çalışma neticesinde laktasyondaki koyunlarda apelin seviyesinin vücut kondisyon skorlarına göre değişmediği ($p>0.05$), buna karşın ırklara göre farklılık gösterdiği ($p<0.05$); ancak gebe koyunlarda ırklara göre bir değişme göstermediği ($p>0.05$) tespit etmişlerdir. Apelin bakımından cinsiyet ile vücut kondisyon skoru, ırk ile cinsiyet ve ırk ile vücut kondisyon skoru interaksyonları önemli buldukları kanaatini belirtmişlerdir.

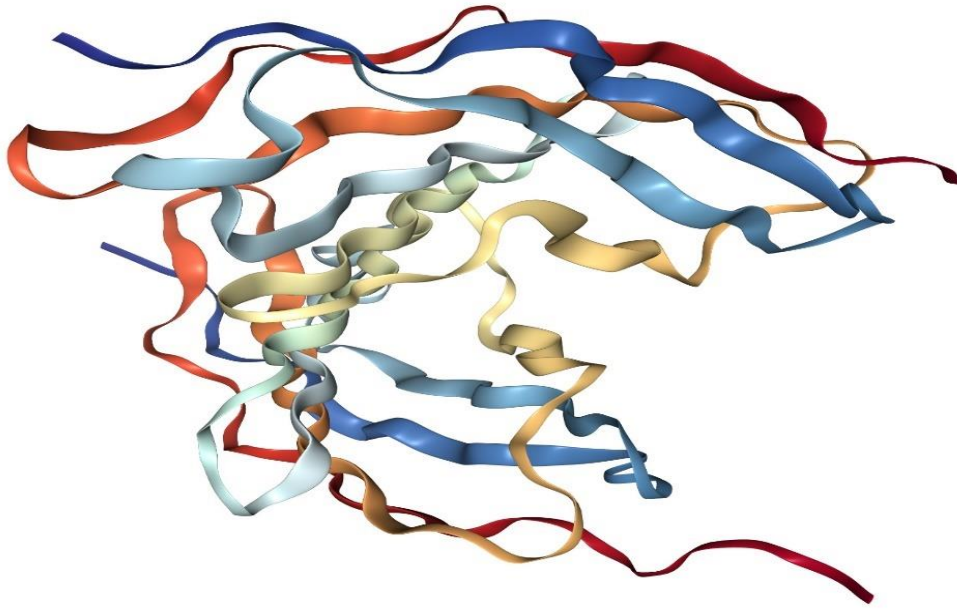
Charles vd. (2006), 10 adet koyunda hemodinamik, apelin hormonun etkilerini incelediklerini araştırmalarında, apelin (1 mg i.v. bolus), arteriyel basınçta akut bir düşüş ve kalp atım hızında bir artış ve ardından hemen arteriyel basınçta bir artış ve kalp hızında bir düşüş ile karakterize edilen iki fazlı bir hemodinamik yanıtı verdiğini belirlemişlerdir. İkincil hipertansif faz, kalp debisinde bir düşüş ($p=0.015$) ve hesaplanan toplam periferik dirençte ($p<0.001$) ve sağ atriyal basınçta ($p=0.031$) anlamlı artışlarla ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir. 10 koyundan dördünde elektrokardiyogram değişiklikleri de gözlemlendiğini, en önemlisi değişen derecelerde atriyoventriküler blok olduğunu gözlemlemişlerdir. Apelin ayrıca plazma arginin vazopressin ($p=0.009$), adrenokortikotropin ($p=0.012$), aldosteron ($p=0.001$), kortizol ($p=0.014$), atriyal ($p=0.036$) ve beyin ($p<0.001$) natriüretik düzeylerinde de önemli artışlara neden olduğunu tespit etmişlerdir. bilinci normal olan koyunlara yüksek dozda apelin uygulanması, sağ atriyal basınç ve toplam çevresel dirençte artış ve kalp debisinde düşüş ile ilişkili olarak arteriyel basınç ve kalp hızında önemli bir bifazik yanıtı neden olduğunu belirlemişlerdir. Çalışma neticesinde, apelin endotelin düzeyini dolaşımdaki düzeyini arttırdığını ve apelin hormonun basınç/hacim homeostazisinde potansiyel bir rol oynadığını kanaatine vardıklarını bildirmişlerdir.

Bayraktar vd. (2020b), maedi-visna enfeksiyonlu koyunlara ait kan serumlarında apelin hormon düzeyi üzerine ırk, laktasyon, gebelik, cinsiyetin etkisinin belirlenmesi hedeflemişlerdir. Çalışma kapsamında Vücut kondisyon skorları (VKS) (<2 , $3-3.5$ ve ≥ 4) farklı olan Akkaraman Kangal ve Morkaraman ırklarına ait gebe, gebe olmayan koyunlar ve

koçların apelin hormon düzeyleri incelemişlerdir. Koyunların *Juguler vena*'dan alınan kan serum örneklerinde ELISA tekniği ile apelin hormon seviyesi belirlemişlerdir. Yapılan analizler sonucunda koçlarda ırklara göre VKS'lerde farklılık olduğu, ırk ile vücut kondisyon skoru arasında interaksiyonun önemli olduğu belirlemişlerdir. Laktasyondaki koyunlarda apelin seviyesinin vücut kondisyon skorlarına göre değişmediği ($p>0.05$), buna karşın ırklara göre farklılık gösterdiği ($p<0.05$); ancak gebe koyunlarda ırklara göre bir değişme göstermediği ($p>0.05$) tespit etmişlerdir. Apelin bakımından cinsiyet ile vücut kondisyon skoru, ırk ile cinsiyet ve ırk ile vücut kondisyon skoru interaksiyonları önemli bulmuşlardır.

1.6. İRİSİN HORMONU FİZYOLOJİSİ VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ

İrisin, 5 (FNDC5) gen içeren fibronektin tip III alanı tarafından kodlanan tip I membran proteini bölünmesinin ürünü, 112 amino asitlik bir peptit yapısına sahip egzersizle indüklenen bir miyokindir (Boström vd., 2012; Staiger vd., 2013).



Şekil 5: İrisin Hormonu 3 Boyutlu Molekül Yapısının Görünümü (PDB, 2024b)

İrisin esas olarak iskelet kasında, özellikle perimisyum, endomisyum ve nükleer kısımlarda salgılanır, ancak yağ dokusu, pankreas, kalp kası ve adipoz dokudan da salgılanmaktadır. İrisin immünoreaktivitesi tükürük bezlerinde, yumurtalıklarda, testislerde, rektumda, intrakraniyal arterlerde, dilde, optik sinirde, midede, nöronal hücrelerde ve ter bezlerinde bulunmaktadır. İrisin'in en önemli fonksiyonlarından biri termojenezin olası düzenlenmesidir. İrisin, peroksisom γ ve onun koaktivatörü-1 α (PGC-1 α) tarafından aktive edilen reseptörün ekspresyonunu artırmak için etki eder, mitokondriyal ayrıştırma proteini

mRNA 1 (UCP1) mitokondriyal biyogenez fonksiyonlarını uyarmaktadır. İrisin, kas aktivitesini iyileştiren yağ dokusunda yararlı değişiklikleri aktive etme yeteneğine sahip bir hormondur; bu nedenle, irisinde orta düzeyde artışlar, bir rasyonla indüklenen insülin direncinde bir iyileşme sağlamaktadır (Puigserver vd., 1998; Castillo-Quan, 2012).

İrisin, kas aktivitesini iyileştiren yağ dokusunda yararlı değişiklikleri aktive etme yeteneğine sahip bir hormondur; kas büyümesinde rolü bulunmaktadır. Adipoz dokusunda ve iskelet kasında glikoz alımını azaltan ve hiperglisemiye neden olan değişikliklere neden olan insülin direncidir, rasyonla indüklenen insülin direncinde bir iyileşme sağlamaktadır (Boström vd., 2012).

İrisin, diyabet, obezite, ve metabolik sendrom, metabolik ve kas bozukluklarında terapötik etkiye sahip bir molekül olarak bildirilmektedir. (Sanchis-Gomar vd., 2012; Choi vd., 2013; Moreno-Navarrete vd., 2013; Park vd., 2014).

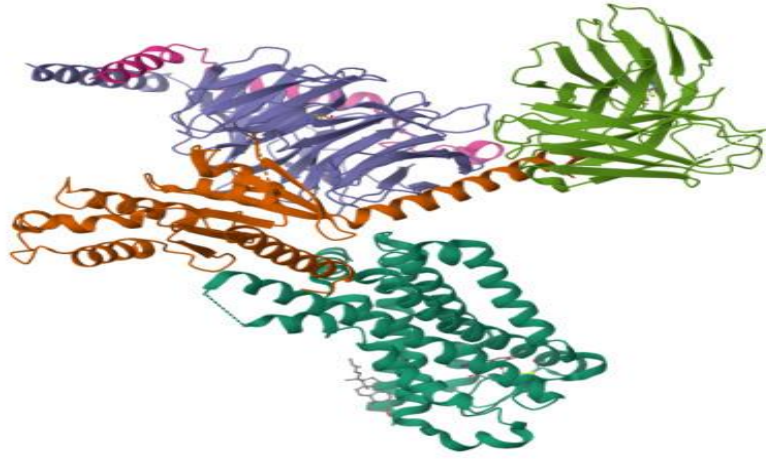
İrisin düzeyindeki azalma metabolik sendrom ve hiperglisemi riskinin artmasıyla ilişkili olduğu ve açlık insülin ve glikozlanmış hemoglobin ile negatif ilişki göstermesi nedeniyle insülin direncine karşı koruyucu etkisi olduğu bildirilmektedir (Yan vd., 2014).

Uzun vadeli sirkadiyen bozukluklar, kardiyovasküler hastalıklar, metabolik sendrom, nörodejeneratif hastalıklar ve tümörler dahil olmak üzere çeşitli zihinsel ve fiziksel hastalıkların başlangıcı ve ilerlemesiyle yakından bağlantılıdır (Fatima & Rana, 2020; Meyer vd., 2022; Bolshette vd., 2023; Lane vd., 2023).

1.7. MELATONİN HORMON FİZYOLOJİSİ VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ

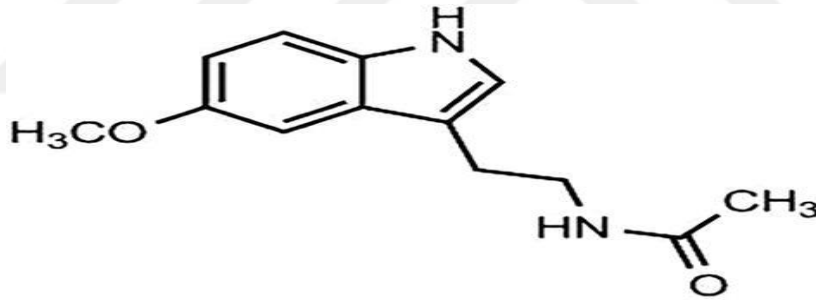
Melatonin, nitrojen atomuna bağlı hidrojenlerden birinin bir 2-(5-metoksi-1H-indol-3-il) etil grubu ile değiştirildiği asetamid olan asetamid sınıfının bir üyesi ve epifiz bezinden salgılanan bir hormondur (Poeggeler vd., 2002).

Melatonin, üreme, uyku, antioksidan etki ve sirkadiyen ritim (biyolojik saat) gibi birçok biyolojik ve fizyolojik süreçte yer alan bir hormondur ve esas olarak epifiz bezinde serotonin aracılığıyla triptofanın metabolizmasından sentezlenen çok işlevli bir indolamin bileşiğidir. Esansiyel amino asit triptofandan sentezlenen bir hormon olan melatonin, esas olarak memeli beyinde bulunan serebral hemisferler arasındaki epifiz bezinden salgılanır. Bunun yanı sıra gastrointestinal sistem, safra, epitel saç folikülleri, deri, retina, dalak, testis, tükürük bezleri, kemik iliği, lökositler, plasenta ve trombositler gibi hücre ve dokularda da üretilmektedir (Molaakbari vd., 2015).



Şekil 6: Melatoin Hormonu (cTnI) 3 Boyutlu Molekül Yapısının Görünümü (PDB, 2024d)

Moleküler formülü $C_{13}H_{16}N_2O_2$ ve moleküler ağırlığı 232.278 g/mol'dür (Şekil 6), (Babaei vd., 2013). Melatonin koyun, keçi ve geyik gibi hayvanlarda gonadlar üzerinde uyarıcı bir etki gösterirken, at, hamster ve deve gibi hayvanlarda baskılayıcı özellikler gösterir (Molik vd., 2017).



Şekil 7: Melatonin Kimyasal Yapısı (Babei vd., 2013)

Melatonin, hayvanın mevsimsel olarak ışık/karanlık oranındaki değişiklikleri takip ederek bir zamanlayıcı görevi görür (O'Callaghan, 1999). Koyunlarda melatonin salgılanması ve plazma seviyeleri gün ışığında düşüktür (Carcangiu vd., 2013). Gün batımından sonra melatonin salgılanması 10-20 kat artar ve gecenin sonunda zirveye ulaşmak için hızla yükselir. Bu nedenle, melatonin sinyali karanlık fazın süresini yansıtmaktadır (O'Callaghan, 1999). Melatonin, üreme siklusunun başlamasında süreçleri başlatmaktadır (DeNicolo vd., 2008). Işık maruziyeti süresi azalmasıyla günlerin kısaltmaya başladığı sonbahar-kış aylarında melatonin salgılanmasını artırır. Artan melatonin salgılanması gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) salgılanmasını uyarır ve koyunlarda hipotalamusa etki ederek östrusun başlatılmasını sağlar (Rosa & Bryant, 2003).

Sirkadiyen ritimlerin senkronizasyonu, üreme, yağlanma, tüy dökme, kış uykusu ve pigment granüllerinin değişimi gibi birçok fizyolojik olayda rol oynamaktadır. Epifiz bezinin melatonin üretimi, multi-sinaptik bir yol aracılığıyla sirkadiyen saat tarafından kontrol edilmektedir. Melatonin hormonu, çoğu türlerde gece zirvesi olan bir sirkadiyen ritmi takip ederek salınmaktadır. SCN tarafından üretilen zamansal sinyal, hem hipotalamik çekirdek ve otonom sinir sistemi aracılığıyla nöral yollar hem de esas olarak pineal bezden gelen melatonin aracılığıyla aracılık edilen endokrin yollar tarafından adenohipofizin pars tuberalisindeki sirkadiyen aktivitenin sürdürülmesinde melatonin sinyalinin gerekliliği için periferik saatlere dağıtılmaktadır (Pevet vd., 2006; Kalsbeek & Buijs, 2002; Von Gall vd., 2005).

DeNicolo vd. (2008), Yeni Zelanda Romney koyunlarında melatonin implantlarının mevsim dışı üreme üzerine etkileri, progesteron + at koryonik gonadotropin (EKG) (kontrol;n=107), melatonin + progesteron + eKG (n=97) veya melatonin + progesteron ile tedavi edilen (n = 96) koyunlarda üreme performansı karşılaştırılarak incelemişlerdir. Melatonin + progesteron + eKG ile tedavi edilen koyunlarda gebe kalma oranları (%67) kontrol koyunlarına göre daha yüksek ($p<0.01$; %47) olduğunu belirlemişlerdir. Gebelik oranları melatonin + progesteron + eKG ile tedavi edilen koyunlarda (%55; $p<0.001$) kontrol koyunlara (%40) göre daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Melatonin + progesteron ile tedavi edilen koyunlarda östrus görüldüğünü (%14; $p<0.001$) ve ardından gebelik (%6) meydana geldiğini belirtmişlerdir. Melatonin + progesteron ile tedavi edilen koyunlarda östrus oranları (%14) hem melatonin + progesteron + eKG ile tedavi edilenlere (%82) hem de kontrol koyunlarına (%86; $p<0.001$) göre birbirine benzer olduğunu bildirmişlerdir. Gebe koyun başına düşen fetüs sayısı her üç tedavi grubunda da benzer olduğunu, melatonin ile tedavi edilen koyunlarda -9. Günde serum melatonin konsantrasyonları daha yüksek olduğu ve tek tek koyunlar arasında önemli farklılıklar bulunduğunu ancak konsantrasyonlar hamile ve hamile olmayan koyunlar için benzer olduğunu tespit etmişlerdir. Gebe kalma oranının daha yüksek olması ve gebe koyunlar başına daha fazla kuzu eğiliminin birleşimi, diğer iki tedavi grubuna kıyasla melatonin + progesteron + eKG ile tedavi edilen koyunlarda tedavi edilen koyun başına daha fazla kuzu doğmasına neden olduğunu belirlemişlerdir. Çalışma sonucunda, melatonin implantlarının, progesteron ve eKG uygulamasıyla birlikte, Yeni Zelanda koyun sürülerinde sezon dışı bir yetiştirme programında tedavi edilen koyun başına doğan kuzu sayısını artırmanın bir yolu olarak uygun olabileceğini, melatonin ve progesteronun olmadığı kanaatini bildirmişlerdir.

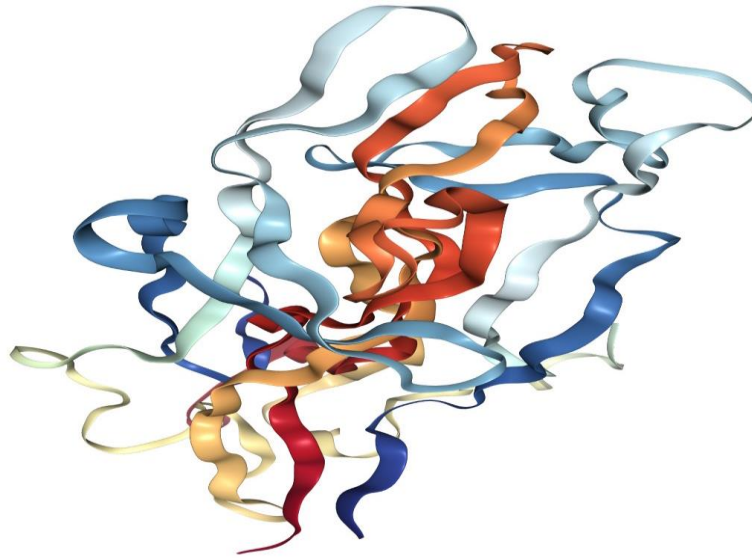
Carcangiu vd. (2013). farklı yaştaki koyunlarda kısa fotoperiyotlar sırasında melatoninin günlük paternini araştırdıkları araştırmalarında doğal ışık koşullarında tutulan ve Grup 1 (12-18 ay); Grup 2 (3-4 yaş); Grup 3 (8-9 yaş) olmak üzere üç eşit gruba ayrılan 30 Sarda koyunu kullanılmışlardır. Çalışma süresince 21 Aralık'tan (12:00 saat) başlayarak 22 Aralık'a (10:00 saat) kadar 22 saat boyunca her 2 saatte bir kan örnekleri toplamışlardır. Çalışma neticesinde günün saati ve yaştan melatonin düzeyi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkiye sahip olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca, yaşlı hayvanlarda melatonin üretimindeki azalmanın önemli olduğunu kanaatini bildirmişlerdir.

Misztal vd. (1996), 8 adet cinsel açıdan olgun koyun (4 koyun ve 4 koç) kullanıldı. Şubat 1991'den Ocak 1993'e kadar iki yıl boyunca yürüttükleri çalışmanın ilk yılında 52°N'de doğal fotoperiyoda maruz kalan koyun ve koçlarda, ikinci yılında ise yapay gün uzunluğu koşullarında (16D: 8L) koçlarda dolaşımdaki melatonindeki mevsimsel değişikliklerin etkisini incelemişlerdir. Koçların kan plazmasındaki LH ve testosteron düzeylerindeki değişiklikleri izlemişlerdir. Koyunlarda ortalama günlük plazma melatonin konsantrasyonu bir yıl boyunca 41 + 7 ile 112 + 13 pg/ml arasında değiştiğini, gün batımından sonraki ilk saatte günlük değerlerin üzerinde önemli bir artış meydana geldiğini belirlemişlerdir. Gece melatonin salgısının süresi, kısa gün döneminde (10-12 saat), uzun gün koşullarına göre daha uzun olduğunu tespit etmişlerdir. Dolaşımdaki melatonin ortalama gecelik konsantrasyonları ağustos ayından şubat ayına kadar en yüksek düzeyde olduğunu, bireysel koyunlar için 171 +73 ile 329 + 187 pg/ml olarak tespit etmişlerdir. Doğal fotoperiyod altında koçların kan plazmasındaki ortalama LH ve testosteron konsantrasyonları, cinsel hareketsizlik döneminde düşüktü ve önemli ölçüde yüksek seviyeler Ağustos ve ekim ayında sırasıyla 6,2 + 0,4 ng/ml ve 4,6 + 0,7 ng/ml olarak tespit etmişlerdir. Mayıs ayında gün uzunluğunun 16 saatten 8 saate kısalması, koçlarda melatonin salgılama süresinin 6 saatten 14 saate çıkmasına neden olduğunu belirlemişlerdir. Üreme fonksiyonu 6 ila 9 hafta kadar ilerlediğini; LH ve testosteron salgısının en yüksek düzeyinin ilk olarak Temmuz ayının başında 8,2 + 0,9 ng/ml ve Ağustos ayında ise 5,2 + 0,9 ng/ml olarak tespit etmişlerdir. Çalışma neticesinde çalışmanın ikinci yılında koçların üreme aktivitesinin süresi, doğal fotoperiyodik koşullara göre daha kısa olduğunu bildirmişlerdir

1.8. BEYİN KAYNAKLI NÖROTROFİK FAKTÖR (BDNF) FİZYOLOJİSİ VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ

Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), beyin gelişimi (Bothwell, 1995; Lewin & Barde, 1996) ve yetişkinlikte nöronların büyümesinde, farklılaşmasında ve hayatta

kalmasında rol oynamaktadır (Lu & Figurov, 1997). BDNF, yüksek afiniteli protein kinaz reseptörleri (Trk) ve seçici olmayan p75NGFR reseptörü ile etkileşime giren nörotrofin ailesine aittir. Beyin gelişimi (Bothwell, 1995; Lewin & Barde 1996) ve yetişkinlikte nöronların büyümesinde, farklılaşmasında ve hayatta kalmasında rol oynamaktadır (Lu & Figurov, 1997). BDNF, hipokampüste aktiviteye bağlı sinaptik plastisitede önemli bir rol oynadığı (Kang & Schumann, 1995; Korte vd., 1995), dentat girusta sinaptik etkinliğin kalıcı bir şekilde artmasını sağladığı (Messaoudi vd., 1998) ve presinaptik bir mekanizma yoluyla hipokampus hücre kültürlerinde glutamaterjik sinaptik iletimi artırmaktadır (Li vd., 1998). BDNF geni kromozom 11p14.1'de bulunmaktadır (Hanson vd., 1992). 5' terminalinde bulunan farklı promotörlerle ilişkili dört ekzon (ekzon I-IV) bulunurken, bir 3' ekzon (ekzon V) olgun BDNF proteinini kodlamaktadır (Timmusk vd., 1993a).



Şekil 8: Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF) 3 Boyutlu Molekül Yapısının Görünümü (PDB, 2024e)

BDNF'nin sekiz farklı transkripti vardır ve ekzon I-III'ten oluşan transkriptler baskın olarak merkezi sinir sisteminde ifade edilir ve ekzon IV kalp ve akciğerde dağılmaktadır (Timmusk vd., 1993b). Farklı memelilerdeki BDNF yalnızca amino asit dizisinde değil aynı zamanda doku dağılımında da oldukça korunmuştur. İki BDNF monomeri her zaman kovalent olmayan bağlanma yoluyla birbirine bağlanarak bir dimer oluşturur ve ardından reseptörlerine bağlanır, bu da hücre içi sinyal iletimini başlatmaktadır (Davies & Wright, 1995). İki BDNF proteini formu vardır: olgunlaşmamış öncü BDNF proteini (pro-BDNF) ve olgun BDNF proteini (mBDNF); her biri farklı bağlanma özelliklerine ve farklı biyolojik aktiviteye sahiptir (Teng & Hempstead, 2004). BDNF, başta beyin olmak üzere hipokampusta, kortekste,

amigdalada ve striatumda ve ayrıca hipotalamusta eksprese edilmektedir (Edelmann vd., 2014). BDNF, sinir ağının gücünü ayarlayarak lokal olarak etki gösterebildiği gibi, kan dolaşımına yayıldıktan sonra beyinden uzaktaki diğer organların fonksiyonlarını etkileyerek de genel olarak etki gösterebilmektedir (Brigadski & Leßmann, 2020). Egzersiz, hipoksi, stres, epileptik nöbetler ve iskemi gibi fizyolojik ve patofizyolojik süreçler BDNF ekspresyonunu dokuya özgü bir şekilde artırmaktadır (Giannopoulou vd., 2018; Lippi vd., 2020). Öğrenme ve hafıza süreçlerini artırması ve yaşlanma ve nörodejeneratif bozukluklarla bağlantılı bilişsel eksikliklerin azaltılmasında etkisi bulunmaktadır (Howells vd., 2000; Michalski & Fahnstock, 2003). BDNF, glukoz metabolizması (Yamanaka vd., 2007), enerji harcaması (Yamanaka vd., 2008) ile gıda alımını etkileyerek iştah baskılaması neticesinde kilo kaybını uyardığı uyarmaktadır (Wang vd., 2007). BDNF, enerji dengesini düzenlerken melanokortin, leptin, kortikotropin salgılayan hormon (CRH) dahil olmak üzere diğer birçok nöro peptitlerle etkileşime girmektedir (Xu vd., 2003; Tsao vd., 2008; Wang vd., 2007). BDNF'nin iki reseptörü olan tropomiyozinle ilişkili kinaz B (TrkB) ve p75 nörotrofin reseptörü (p75NTR), tüm vücut enerji homeostazında rolü bulunmaktadır (Podyma vd., 2021). BDNF'nin sirkadiyen sistemin güçlü bir modülatörüdür. BDNF, sirkadiyen saatin merkezi olan SCN'de (Liang vd., 1998b) yüksek düzeyde eksprese edilir (Moore & Eichler, 1972; Bradshaw vd., 1990). BDNF'nin SCN içindeki ekspresyonu ritmiktir; en yüksek mRNA ekspresyonu biyolojik gece boyunca ve en yüksek protein ekspresyonu biyolojik gün boyunca gerçekleşmektedir (Liang vd., 1998).

Roszkowicz-Ostrowska vd. (2022), üçüncü beyin ventrikülüne düşük (20 µg) ve yüksek dozda (100 µg) kinurenik asid uygulamasına bağlı olarak hippocampal *cornu ammonis bölgesinde* BDNF ve TrkB mRNA seviyesini uyardığı 100 µg yüksek dozda kinurenik asit uygulamasının BDNF düzeyini artırdığını bildirmişlerdir. Çalışma neticesinde kinurenik asidin beyin hücrelerinde potansiyel nörotrofik ve nöroprotektif etkiye sahip olduğunu BDNF-TrkB ve BER yollarının uyarılması ile gerçekleştirdiği kanaatini belirtmişlerdir.

Przybył vd. (2020), BDNF, hipotalamusunda iştah düzenleme merkezi peptid gen aktivitesi üzerindeki düzenleyici etkisini incelemişlerdir. BDNF, koyunlarda nöropeptid Y (npy), agouti ile ilişkili peptid (agrp), kokain ve amfetaminle düzenlenen transkript (cart) ve proopiomelanokortin (pomc) mRNA ekspresyonu ve seçilmiş mikroRNA'ların modülasyonunda rolünü belirlemeye çalışmışlardır. Bu amaçla Kontrol gruplarında Ringer-Laktat solüsyonunun merkezi infüzyonu (480 µl/gün) verilirken, deney gruplarına 10 veya 60 µg/480 µl/gün olacak BDNF dozları uygulanmak üzere üç grup oluşturmuşlardır. Bütün

koyunlara ardışık üç günün her birinde dört adet intraserebroventriküler infüzyon (sabah 08:40'tan 13:30'a kadar gerçekleştirmişlerdir, infüzyon uygulamalarında 30 dakika aralıklarla 4 x 50 dakikalık infüzyonlar) uygulamışlardır. Çalışma neticesinde BDNF, ARC çekirdeğindeki Npy, Agrp, Cart, Pomc ve peptidilglisin alfa-amidleyici monooksijenaz (pam) mRNA ekspresyonunun modülasyonu yoluyla iştah düzenleyici merkez aktivitesini etkileyebileceği sonucuna vardıklarını ve BDNF'nin koyun ARC çekirdeğindeki miRNA ekspresyonunu düzenlediğini bildirmişlerdir.

Colitti (2015), koyunların meme bezlerinde prepubertal dönemden involüsyona kadar sinir büyüme faktörü (NGF), BDNF ve yüksek afiniteli tirozin kinaz reseptörleri TrkA ve TrkB'nin dağılımı immün histokimyasal yöntemle araştırdıkları araştırmalarında NGF ve BDNF protein ekspresyonları, prepubertal dönemde ve gebelikte bezlerin gelişimi sırasında güçlü iken, laktasyon ve involüsyon sırasında azaldığını bildirmişlerdir. Gelişmekte olan bezin hem stromal hem de parankimal hücrelerinde lokalize olan ekspresyonlar, laktasyon sırasında esas olarak salgı hücrelerinin apikal tarafında düzenlendiğini, NGF daha sonra gebelikten uterus involüsyonuna kadar aşağı doğru düzenlendiğini bu süreçlerde hiçbir istatistiksel fark olmadığını bildirmişlerdir. TrkA reseptörü de gebelikten doğuma kadar yetersiz eksprese edildiğini ve TrkA reseptörü ekspresyonun gebelik ile 30 günlük emzirme süreci ve 30 ve 60 günlük emzirme arasında önemli ölçüde farklılık gösterdiğini tespit etmişlerdir. BDNF, prepubertal aşamaya oranla 60 günlük laktasyonda ve gebelik ile 30 günlük laktasyon arasında önemli ölçüde aşağı regüle edildiğini, TrkB reseptörünün, gebelik, uterus involüsyonu ve 60 günlük süren laktasyonda da aşağı regülasyon gösterdiğini belirtmişlerdir. Çalışma neticesinde meme bezi döngüsünde yer alan sayısız diğer moleküler sinyaller arasında, nöropeptitlerin ve reseptörlerinin lokal üretimi, bunların meme biyolojisindeki potansiyel rolünün anlaşılmasında katkı sağlayacağı kanaatini bildirmişlerdir.

Andanson vd. (2020), BDNF'nin koyunlarda gonadotropik eksenin aktivitesini modüle ettiği hipotezini incelemeyi amaçladıkları çalışmalarında, BDNF'nin merkezi infüzyonları cinsel açıdan olgun koyunlara uygulamışlardır. Çalışmada 3 grup oluşturmuşlardır kontrol grubuna intraserebroventriküler taşıyıcı intraserebroventriküler infüzyonları, ikinci grupta ise BDNF 10 grubuna 10 µg/480 µL/gün oranında BDNF'nin ICV infüzyonları, 3.grupta ise BDNF 60 grubuna BDNF ile 60 µg/480 µL/gün oranında infüzyon uygulamışlardır. Art arda üç günde dört infüzyondan sonrası infüzyonların 0. ve 3. günlerinde kan örnekleri toplamışlardır. Çalışma sonucunda koyunlar kesilerek gerçek zamanlı RT-qPCR analizi için hipotalamus ve hipofizin seçilmiş yapıları toplamışlardır. Eksojen BDNF ile merkezi tedavi,

preoptik alanda GnRH mRNA ekspresyonunu ve ayrıca hipofizde GnRH-R mRNA'yı uyardığını, ICV BDNF uygulamasından sonra mediobazal hipotalamusta KNDy mRNA ekspresyonunda önemli değişiklikler gözlediklerini ve santral BDNF infüzyonu periferik kanda LH konsantrasyonunun azalmasına ve aynı zamanda FSH konsantrasyonunun artmasına neden olduğunu belirtmişlerdir. BDNF infüzyonu alan her iki koyun grubunda da herhangi bir gonadotropin için ne nabız genliği ne de nabız frekansı etkilenmediğini bildirmişlerdir. Çalışma sonucunda ekzojen BDNF'nin GnRH ve KNDy gen ekspresyonunu etkilediğini ve LH ve FSH hipofiz hücresi salgı aktivitelerindeki değişiklikleri ortaya çıkardığını, BDNF'nin dişi koyunlarda merkezi düzeyde gonadotropik eksenin aktivitesini modüle eden mekanizmaya katılabileceğini gösterdikleri kanaatini bildirmişlerdir.

1.9. BEYİN VE KAS ARNT BENZERİ PROTEİN 1 (BMAL1) FİZYOLOJİSİ VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ

Vücudun tüm dokularında ortak olan çekirdek saat genleri ve çoğu dokuya özgü, gen ifadesinde sirkadiyen salınımlar göstermektedir (Reppert & Weaver, 2002). Çekirdek saat sistemi, iki temel sarmal-döngü-sarmal-PAS alanı içeren transkripsiyon faktörü olan CLOCK-BMAL1 heterodimerinin Per ve Cry genlerinin transkripsiyonunu uyardığı uyarıcı bir döngüden ve PER-CRY heterodimerinin çekirdeğe taşınarak CLOCK ve BMAL1 genlerinin transkripsiyonunu baskıladığı inhibe edici bir geri bildirim döngüden oluşmaktadır (Dibner vd., 2010). BMAL1 (Beyin ve kas arnt benzeri protein 1), sirkadiyen ritimin temel düzenleyicisi ve transkripsiyon/translasyon feedback döngüsünün merkezinde yer alan bir Basic Heliks-Loop-Heliks (bHLH)/Per-Arnt-Sim (PAS) alanından oluşan heterodimerik transkripsiyonel aktivatördür (Koike vd., 2012). BMAL1, her bir proteinden PAS alanları protein-protein etkileşimlerinde rol oynar ve temel sarmal-döngü-sarmal alanları ise DNA bağlanmasında oynayan asimetrik konformasyonda sıkıca iç içe geçmiş bir yapıya sahiptir (Şekil 9), (Hang vd., 2012).



Şekil 9: Beyin ve Kas Arnt Benzeri Protein 1 (BMAL1) 3 Boyutlu Molekül Yapısının Görünümü (PDB, 2024f)

Transkripsiyon-çeviri geribildirim döngüsünde çekirdek bir transkripsiyon faktörü olarak görev yapan BMAL1, hücrelerin moleküler biyolojik saatinin korunmasına katılır ve ayrıca çeşitli hastalıkların gelişimine aracılık etmektedir. Gen transkriptlerinin sirkadiyen salınımları, BMAL1-CLOCK heterodimeri ve negatif düzenleyicileri PER ve CRY tarafından aktive edilerek yürütülen negatif bir geri bildirim döngüsüne dayanmaktadır (Gallardo vd., 2024). BMAL1 yoksunluğunda ratlar, davranışsal olarak aritmiktir, erken ölür ve çok çeşitli organ patolojileri görülmektedir. Ratlarda BMAL1 yoksunluğunda anormal diz eklemi morfolojisi ve tendon kalsifikasyonu ve azalmış aktivite ile ratların boy, canlı ağırlığı ve büyümesine olumsuz yönde etkilediği bildirilmektedir (Kondratov vd., 2006; McDearmon vd., 2006). Kardiyomiyositerlede yer alan sirkadiyen saat geni BMAL1'in kaybı, titin izoform bileşiminde kayma ile miyozin proteininin ağır zincirindeki gen ifadesinde değişme ve sarkomer yapısının bozulması ile kardiyomiyopati gelişimine yol açmaktadır (Lefta vd., 2012). BMAL1, moleküler saatin önemli bir bileşenidir ve kaybının sirkadiyen ritimlerin tamamen bozulmasına yol açtığı tek proteindir. BMAL1 sirkadiyen ritmin önemli bir düzenleyicisi BMAL1 fonksiyonundaki bozulma, çeşitli psikiyatrik, onkogenik, nörodejeneratif rahatsızlıklar ile endokrin ve metabolizma bozukluklarıyla ilişkili olduğu bildirilmektedir (Akladios vd., 2018; Hasegawa vd., 2019; Liu vd., 2023). BMAL1, kasta yer alan saatin sirkadiyen salınımı etkileyerek iskelet kasındaki glukoz alınımları ile glukoz ve kas metabolizmasında rol oynamaktadır. İskelet kasındaki sirkadiyen ritimlerin benzersiz bir özelliği, kas saatinden bağımsız olarak bir dizi kas geninin salınımını etkileyebilen motor nöron bağımlı kasılma aktivitesidir (Schiavino vd., 2016).

Varcoe vd. (2014), sirkadiyen ritim bozulmasının koyunlarda metabolik fonksiyon üzerindeki etkisini değerlendirdikleri araştırmalarında yetişkin koyunlara (n = 7) 3 hafta boyunca 12 saat aydınlık-12 saat karanlık kontrol fotoperiyodu uyguladıklarını, ardından 4 hafta boyunca ışığa maruz kalma süresi haftada iki kez tersine çevrilerek hızla değişen fotoperiyotlar uygulamışlardır. Merkezi (melatonin salgılanması ve çekirdek vücut sıcaklığı) ve periferik ritmiklik (iskelet kasında saat ve metabolik gen ekspresyonu) ölçümleri her iki durumda da 24 saat boyunca elde etmişlerdir. Metabolik homeostaz, glukoz tolerans testleri ve 24 saatlik glukoz ve insülin profilleri ile değerlendirildi. Melatonin ve çekirdek vücut sıcaklığı ritimleri, son fotoperiyod değişiminden sonraki 2 gün içinde yeniden senkronize etmişlerdir. Yüksek amplitüdlü BMAL1, Clock, Nr1d1, Cry2 ve Per3 mRNA ritimleri, son faz kaymasından 2 gün sonra 3,5 saate kadar faz ilerletilen iskelet kasında belirgindi, oysa Per1 ekspresyonu bu sırada aşağı regüle edildiğini belirlemişlerdir. Kronik faz değişimlerini takiben gece glukoz konsantrasyonları azalırken (zeitgeber zamanı 0, - %5,5; zeitgeber

zamanı 12, - %2,9; ve zeitgeber zamanı 16, - %5,7) plazma insülini, glukoz toleransı ve glukozla uyarılmış insülin sekresyonu azalmadığı belirlemişlerdir. Çalışma sonucunda, koyun iskelet kasındaki saat geni ekspresyonunun 24 saat boyunca salındığını ve değişen fotoperiyotlara yanıt verdiğini, ruminant sindirim organizasyonundan kaynaklanabildiğini, hızla değişen fotoperiyotlara maruz kalmanın ardından merkezi ve periferik ritmiklikteki bozulmalara rağmen koyunlarda glikoz homeostazisi üzerinde minimum etki olduğunu göstermektedir.

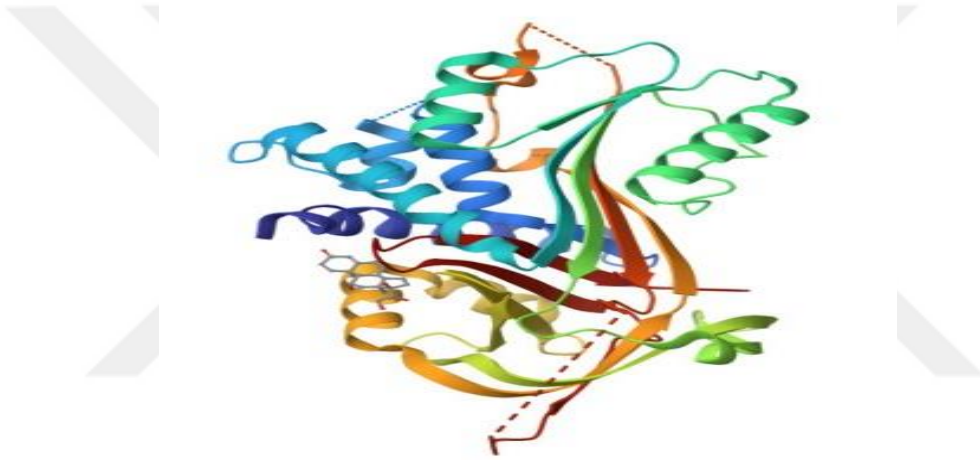
Dardente vd. (2009), koyun saati bileşenlerini ve proksimal gen promoterlerini klonlama neticeinde ve sirkadiyen saatin göze çarpan moleküler özellikleri olan NIH3T3 ve COS7 hücrelerinde in vitro test etmişlerdir. Bunlar arasında (1) gerçek zamanlı lusiferaz analizleri ile değerlendirilen Rev-erb α , Per1, Cry1 ve BMAL1 ekspresyonunun koordineli aşamaları, (2) Per1 ve Rev-erb α promotörlerinde CLOCK/BMAL1 işlemleri, (3) baskılama yer aldığını bildirmişlerdir. DEC1, çift yönlü transkripsiyonel etkilere, baskılayıcıya veya aktivatöre sahiptir. Ayrıca saat proteinlerini etkileyen bazı fosforilasyon olaylarının koyun sirkadiyen saat geninde korunduğunu, gündüz ve gece memelilerinin sirkadiyen saatindeki transkripsiyon ve translasyon sonrası mekanizmaların geniş bir şekilde korunmasıyla tutarlı olduğu kanaatine vardıklarını bildirmişlerdir.

1.10. KORTİZOL HORMON FİZYOLOJİSİ VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ

Kortizol, böbreğin adrenal korteksin zona fasciculata katmanından salınan ve kolesterolden sentezlenen ve stres hormonu olarak bilinmektedir (Sapolsky vd., 2000). Kortizolün salgılanması ve salınımı, organizmanın başlıca nöroendokrin sistemlerinden biri olan hipotalamus-hipofiz-adrenal (HPA) eksenini tarafından düzenlenmektedir. Hipotalamus kortikotropin salgılatan hormon CRH, ACTH salınımını uyarmak için hipofize etki eder ve ACTH daha sonra adrenal bezini (zona fasciculata ve zona reticularis) glukokortikoidler ile kortizol salınımı uyarmaktadır (Oakley vd., 2019). Çoğu memelide HPA ekseninin aktivasyonunu takiben sentezlenen belirgin glukokortikoid kortizoldür; ancak kemirgenlerde ve kuşlarda, salgılanan başlıca glukokortikoid kortikosterondur (Ralph & Tilbrook, 2016). Kortizol hormonu, homeostazın koruması için vücudun diğer hormonlarıyla birlikte çalışmaktadır. Kortizol salgılanması sirkadiyen bir ritmi doğrultusunda olup birçok canlı organizmanın hayatta kalması için de gereklidir (McKay & Cidlowski, 1999).

Kortizol, vücuttaki hemen hemen her doku ve organ üzerinde etki etmektedir. Organizmada glukoneogenez, protein katabolizması, bağışıklık tepkisi, su dengesi, lipoliz,

kardiyovasküler fonksiyon, üreme ve iskelet büyümesi dâhil olmak üzere çok sayıda fizyolojik süreci düzenlenmesinde rolü bulunmaktadır. Glukokortikoidlerin çoğu, kortikosteroid bağlayıcı globuline (CBG) veya albümine bağlı olarak inaktif bir formda dolaşmaktadır. İnaktif form, çoğu dokuda 11-beta-hidroksisteroid dehidrogenaz 1 (11-beta-HSD1) tarafından aktif formuna dönüştürülürken, 11-beta-HSD2 böbrek ve pankreasta kortizolü tekrar kortizona dönüştürülmektedir. Kortizol, çoğunlukla stresli durumlarla Hipotalamus-hipofiz-adrenal ekseninin (HPA eksen) aktivasyonu yoluyla strese karşı yanıtı düzenlemektedir. Kortizol, dolaşımdan serbest hormonun alınması ve nükleer transkripsiyon faktörlerinin steroid reseptör hormon süper ailesinin üyeleri olan hücre içi kortikoid reseptörlerine (GR'ler) bağlanmasının ardından etkisini göstermektedir (O'Byrne vd., 2021).



Şekil 10: Kortizol Hormonu 3 Boyutlu Molekül Yapısının Görünümü (PDB, 2024f)

Kortizol, karaciğer, kas, yağ dokuları, pankreas, testis ve yumurtalıkların dokuları ve hücreleri üzerinde etki etmektedir. Enerji düzenlemesi, glikoz metabolizması, bağışıklık fonksiyonu, beslenme, sirkadiyen ritimler ve davranışsal süreçler gibi çeşitli süreçlerin düzenlenmesinde de rol oynamaktadır. Kortizol çoğunlukla akut strese veya hastalığa adaptasyon için kritik olan enerji depolarının serbest bırakılmasını destekleyen katabolik bir etkiye sahiptir. Kanda glukoz homeostazının sürdürülmesi, glukokortikoidler ve daha spesifik olarak kortizol tarafından düzenlenen merkezi fizyolojik işlevleri içerisinde yer almaktadır. Kortizol ve diğer glukokortikoidler, karaciğer, endokrin pankreas, iskelet kası ve yağ dokusu üzerindeki toplu etkilerini uygulayarak glikoz metabolizmasının tüm yönlerini etkilemektedir. Kortizol ritimlerindeki bozulma genellikle hastalığa yol açar ve kronik CORT fazlalığı genellikle glikoz metabolizmasının bozulması ve sekonder tip 2 diyabetin gelişiminde rolü bulunmaktadır (Zaval vd., 2020).

Fulkerson ve Tang (1979), koyunlarda plazma kortizolün düzeyinin ultradian ve sirkadiyen ritimlerini inceledikleri çalışmalarında, 3 adet koyunda 3 hafta süre ile plazma kortizol düzeyi ölçmüşlerdir. Plazma kortizol düzeyi gece yarısından hemen sonra en yüksek seviyelere ve öğleden sonra en düşük değerlere sahip olan belirgin günlük varyasyonları ortaya çıkardığını, plazma kortizol seviyesindeki belirgin bir ultradian ritimin (frekans 0.8-1.2 döngü/saat) ile ilişkili değişen genlikten kaynaklandığı belirtmişlerdir. Çalışma sonucunda günlük kortizol salgılanma hızının ortalama 8.49 mg değerini bulduklarını, kortizolün gerçek salgılanma oranının elde edilmesi için daha fazla araştırmalara ihtiyaç duyulduğu kanaatini bildirmişlerdir.

Przekop vd. (1985), 3 gün boyunca günde 9 saat boyunca ön ayaklara elektrostimülasyon (zayıf elektrik uyarısı) uygulanan anöstrus, pro-östrus ve hamile koyunlarda plazma kortizol düzeyindeki sirkadiyen değişimini inceledikleri araştırmalarında, gebe olmayan koyunlarda kortizol seviyesi uyarının uygulandığı 3 günün her birinde yükseldiğini, uyarımı takip eden günde azaldığını tespit etmişlerdir. Gebe koyunlarda plazma kortizol konsantrasyonlarında benzer bir azalma ayak şokunun ikinci gününde ortaya çıktığını saptamışlardır. Elektrostimülasyon günlerinde sirkadiyen ritmin akrofazı, ayak şoklarının uygulanma zamanıyla eşzamanlı olarak uyarılan koyunlarda uyarı öncesi güne kıyasla önemli ölçüde hızlandığını görmüşlerdir. Östrus öncesi ve gebe koyunlarda plazma kortizol seviyesindeki azalmaya, normal ritim kaybolması şekillendiği, 3 günlük ayağa uygulanan zayıf elektrik uygulamasından sonra eksojen kortikotropine karşı normal bir plazma kortizol yanıtı kaydedildiğinden, uzun süreli stres sonrasında kortizol düzeyindeki azalmanın adrenal korteksin aşırı çalışmasına bağlı kaynaklanmadığı sonucuna vardıklarını bildirmişlerdir.

Wyse vd. (2018), standart çiftlik hayvancılığı koşulları altında tutulan koyunların sirkadiyen ritimlerini karakterize etmek ve mevsim, sütten kesme ve barınmadaki değişikliklerin sunduğu çevresel zorlukların sirkadiyen ritim üzerindeki etkilerini inceledikleri çalışmalarında, 9 erkek koyun 1 yıl süre ile doğal fotoperiyod altında meralarda veya grup olarak ahırlarda barındırılan koyunlarda sütten kesmeden önce ve sonra, yazın ve kışın, meralarda ve ahırlarda ölçmüşlerdir. Lokomotor aktivitede sütten kesme ve ahır barınması nedeniyle bozulan yüksek amplitüdlü, günlük ritimleri ortaya çıkardığını belirlemişlerdir. Kışın ritimler, yalnızca koyunların otlakta tutulduğu zamanlarda kesintiye uğrayan bir gece aktivite modeli gösterdiğini tespit etmişlerdir. Kortizol ve melatonin salgısı kış ve yaz aylarında tipik sirkadiyen düzenleri takip ettiğini saptamışlardır. Çalışmanın saha koşullarındaki koyunların sirkadiyen ritimlerinin, bazal koşullar altında çarpıcı derecede

sağlam olduğunu çevresel zorluklar nedeniyle kolayca bozulduğunu saptamışlardır. Ayrıca çalışma sonucunda deney koşullarında tutulan koyunlar için daha önce bildirilmeyen, uzun kış geceleri boyunca kesintiye uğrayan aktivite modelleri kaydedildiğini belirlemişlerdir.

Simonetta vd. (1991), 8 gebe koyunda (gebeliğin 123 ve 144. günleri), farklı beslenme rejiminin, koyun ve fetusun plazma kortizol ve adrenokortikotropik hormon (ACTH) düzeylerinin 24 saatlik profilleri üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Çalışma süresince günlük beslenen koyunlara (n = 4) saat 11.00'de 1 kg yonca-samanı, çoklu beslenen koyunlara (n = 4) ise saat 09.00, 11.00 ve 13.00'de 100-200 g ve akabinde 150 gün boyunca saat 09.00'a kadar yonca-samanı vermişlerdir. Gebeliğin 123. gününden itibaren günde bir kez beslenen koyunlarda ve 135. günden sonra fetüslerinde kortizolün plazma konsantrasyonlarında önemli bir günlük varyasyon olduğunu belirlemişlerdir. Plazma kortizol düzeyleri koyunlarda saat 11.00'de, fetüslerde ise saat 13.00'te en yüksek düzeye ulaştığını bildirmişlerdir. Çoklu beslenen grupta ise ACTH düzeyi en yüksek koyunlarda saat 09.00, fetüslerde ise saat 13.00'te, gebeliğin 123. ve 144. günleri arasında herhangi bir aşamada bu grubun koyunlarında veya fetüslerinde kortizolün plazma konsantrasyonlarında önemli bir günlük değişiklik olmadığını belirlemişlerdir.

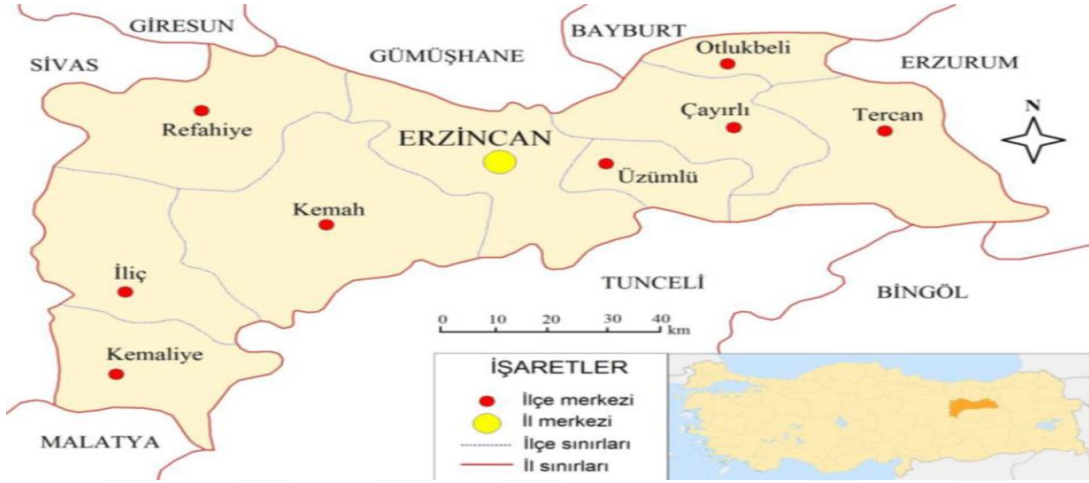
İKİNCİ BÖLÜM

2. YÖNTEM

2.1. MATERYAL

2.1.1. Araştırma Alanı

Bu tez çalışması Erzincan İli Üzümlü ilçesine bağlı koyunculuk faaliyeti gösteren yaklaşık 500 başlık damızlık koyun kapasiteli bir koyunculuk işletmesinde gerçekleştirilmiştir (39°40'0.20"N; 39°43'7.80"E).



Şekil 11: Araştırma Alanı Lokasyonu Haritası

Çalışma 2024 yılı Mart-Mayıs ayları arasında yürütülmüş ve 10 gün süreyle adaptasyon ve 60 gün süre ile besi denemesi olmak üzere toplamda 70 gün sürmüştür.



Şekil 12: Araştırma Alanı Besi Denemesinin Gerçekleştiği İşletmenin Görüntüsü

2.1.2. Hayvan Materyali

Çalışmanın hayvan materyalini entansif şartlarda yetiştirilen ve kayıtları düzenli olarak takip edilen, sütten kesilmiş, klinik olarak sağlıklı görünüme sahip yaklaşık 2.5 aylık yaştaki 48 adet erkek İle de France ırkı kuzu oluşturmaktadır.

Çalışma, 2024 yılının Mart-Mayıs ayları arasında adaptasyon (10 gün) ve besi deneme (60 gün) süresi olmak üzere 70 gün sürdü. Adaptasyon süresi başlangıcında kuzulara iç parazit (Rabenzole) uygulaması yapılmıştır. Denemeye başlamadan önce ve 15 gün sonra olmak üzere iki defa karma aşıları (Tetrandoll – Coglovax) yapılmıştır.

Çalışmada hayvanlar randomize olarak seçilen grupların canlı ağırlık ortalaması birbirine yakın olacak şekilde her biri 12 baş erkek kuzudan oluşan 1 kontrol (M0), 3 deneme (M200, M400 ve M600) olmak üzere 4 grup oluşturulmuştur. Kuzu besi rasyonlarına sırasıyla 0 (kontrol), 200, 400 ve 600 mg/kg düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilmiştir. Yemleme sonrasında artan yemler ayrı ayrı tartılarak 15 günlük yem tüketimi hesaplanmıştır. Hayvanların önünde her zaman temiz su bulundurulmuştur.

Deneme süresince bütün hayvanlar aynı şartlar ve sıcaklık altında bakım ve beslemeye tabi tutulmuştur. Ayrıca kuzuların mineral ve tuz ihtiyacının karşılanması amacıyla bütün bölmeler içerisinde yemlik yanında yalama taşı bulundurulmuştur.

Sirkadiyen ritmini değerlendirme amacıyla, araştırmanın 0., 15., 30., 45. ve 60. günleri içerisinde 07:00, 13:00, 19:00, 01:00, 07:00 zaman dilimlerinde aynı kuzuların boyun toplardamarından (*vena jugularisten*) kan serum örnekleri alındı aynı şekilde fizyolojik parametrelerin sirkadiyen değişimleri incelenmesi amacıyla vücut sıcaklığı, nabız ve solunum sayıları ölçüldü.

Kan alınan serum örneklerinde serum apelin, irisin, melatonin, BDNF, BMAL1, kortizol hormonu düzeyleri ELISA yöntemiyle incelendi. Aynı şekilde fizyolojik parametrelerin sirkadiyen değerlendirilmesi amacıyla vücut sıcaklığı, nabız ve solunum sayıları araştırmanın aynı gün ve saatlerinde ölçülmüştür.

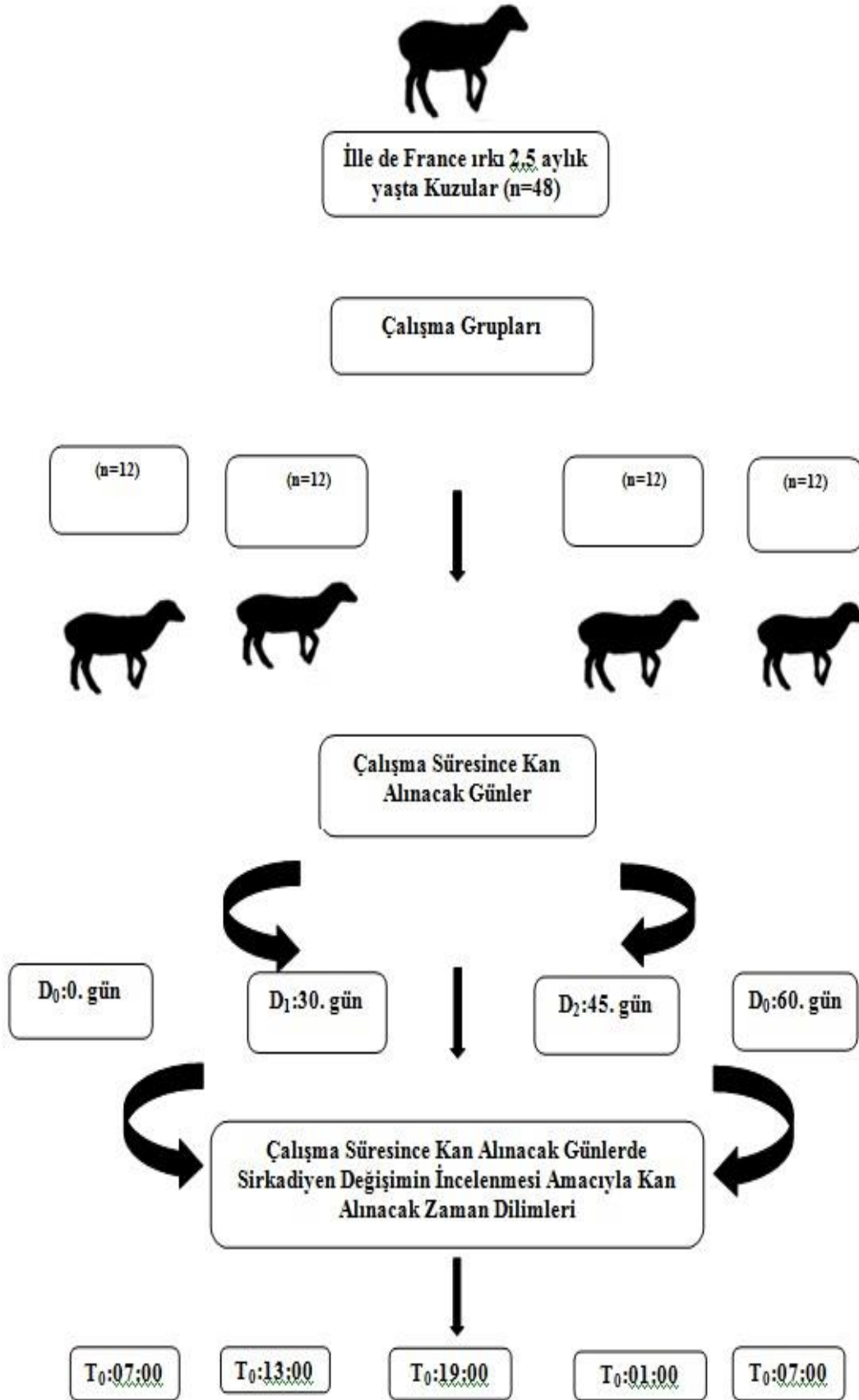
Nabız ve solunum sayısı stetoskop (Kruuse Stetoskop/DENMARK) yardımı ile sol ön bacağın vücutla birleşme noktasından alınmıştır. Rektal sıcaklık ise dijital termometre (Kruuse Veteriner Termometre/DENMARK) kullanılarak 0.1 duyarlılıkla belirlenmiştir. Hayvanlar $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta, %50-60 düzeyinde nemin ve 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık periyod döngüsü içerisinde barındırılarak ad libitum olarak beslenmeleri sağlandı.

Deneme süresince çalışmanın gerçekleştiği günlere ait sıcaklık, gün doğumu, gün batımı, ışıklanma süresi, ortalama rüzgâr hızı, ortalama bağıl nem bilgilerini gösteren iklim verileri ise Çevre, Şehircilik ve İklim Değişikliği Bakanlığı Meteoroloji Genel Müdürlüğü web sitesinde yayımlanan hava tahmini raporlarında sunulan verilerden edinilmiştir (MGM, 2024).

Tablo 3: Çalışmanın Hormon ve Fizyolojik Parametrelerinin Sirkadiyen Değişimlerin İncelendiği Günlere Ait İklim Verileri ve Karşılaştırmaları

	Hafta	Gün Doğumu	Gün Batımı	Işıklanma Süresi	Ort. Rüzgar Hızı (100m) ve Hakim Yönü	Ortalama Bağıl Nem	Sıcaklık
0.Gün	18 Mart 2024	06:27	18:30	12:03	4,3 km/s – Güney	81%	1°C
15.Gün	1 Nisan 2024	06:04	18:44	12:40	4,8 km/s – Güney	82%	6°C
30.Gün	16 Nisan 2024	05:41	18:59	13:18	4,5 km/s - Güney- Batı	74%	8°C
45.Gün	1 Mayıs 2024	05:21	19:14	13:53	3,9 km/s – Kuzey	61%	12°C
60.Gün	16 Mayıs 2024	05:05	19:29	14:24	5,1 km/s – Batı	66%	15°C

Mevcut çalışma süreci hayvan refahı ve hakları korunarak etik ilke ve kurallar doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın etik onayı; Etlik Veteriner Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu’nun 26.10.2022 tarihli 2022/28 kararı ile alınmıştır.



Şekil 13: Çalışma Gruplarının Oluşturulmasına Yönelik Bir Görünüm

2.1.3. Hayvan Barınağı

Çalışmanın gerçekleştirildiği yer, küçükbaş hayvancılık işletmesinde 200x200x120 cm ebatındaki tesadüf parselleri deneme desenine göre şansa bağlı olarak gruplandırılarak her birinde 12 adet kuzu olacak şekilde çalışma gruplarını temsil eden 4'er adet padoklarla bölünmüş bölmelerde yürütülmüştür. Altlık materyali olarak saman kullanılmış olup belli aralıklarla altlığın temizliği yapılmıştır. Padok Alanları 9m x 45m (2 Adet) Servis yolu 4m x 4.5 m Pencere 0,8m x 4.5m Pencere boyu boyunca olmakla birlikte aralarında çelik kolonların yer aldığı 5'erli gruplar halindedir ve bu 5'li pencere grubunun ortasında yer alan 3'ü açılabilir. Ahırın havalandırılmasında, hakim rüzgarın yönüne ve şiddetine göre hem baca açıklığından hem de açılabilir pencerelerden faydalanılmaktadır. Her bölme için ayrı ayrı 50x15x15 cm ebatında yemlik yerleştirilmiştir. Suluk olarak ise yine her bölme için 35 cm derinlikte ve 35 cm çapındaki plastik kovalar kullanılmıştır. İşletmeye ait kapalı alan içerisinde her grup için, hayvan başına minimum 2m² alan düşecek şekilde bölmeler oluşturularak her bölme için ayrı ayrı yemlik ve suluklar yerleştirildi.

2.1.4. Yem Materyali

Araştırmada Ankara'da ticari bir firma tarafından toz formda hazırlatılarak temin edilen yem materyali kullanıldı. Çalışmaya başlamadan önce 10 gün süre ile alıştırmaya dönemi uygulanmış ve bu süre sonunda hayvanlar besiyeye alınmış ve deneme süresi toplamda 70 gün sürmüştür. Besi süresince hayvanlara sınırsız (ad-libitum) yemleme uygulanmıştır. Hayvanların önlerinde her zaman temiz su bulundurulacak ve tüm gruplar aynı şartlar altında çalışmanın son gününe kadar bakım ve beslemeye tabi tutulmuştur.

Araştırmada kullanılan yem ham maddelerinin kuru madde, ham kül, ham protein, ham yağ analizleri AOAC'de bildirilen analiz yöntemleriyle, ham selüloz ise Crampton ve Maynard göre yapıldı.

Nötral deterjan fiber (NDF) ve asit deterjan fiber (ADF) analizleri ise sırasıyla Van Soest ve ark. ile Goering ve Van Soest' e göre yapıldı. Çalışma süresi boyunca sınırsız (ad-libitum) düzeyde kullanılan kuzu rasyonlarına ait besin madde kompozisyonları ve kimyasal analiz sonuçları Tablo 4'te verilmiştir. Besi süresince kuzuların canlı ağırlık artışları ve yem tüketimleri 15 günde bir yapılan kontrol tartımlarıyla saptanmış ve besiyeye 60 günde son verilmiştir. Besi başlangıç ve diğer kontrol tartımları aç karnına yapılmıştır. Kuzulara verilen ve artan yemler tartılarak besinin çeşitli dönemlerinde ve tüm besi süresince yem tüketimleri belirlendi.

Tablo 4: Rasyon Besin Madde İçeriği ve Analizleri (g/kg)

Protein	15,50
Ham Yağ	2,07
Ham Lif	10,10
Ham Kül	9,54
Metabolik Enerji (KCal/kg)	2.559,52
Sodyum	0,35
Kalsiyum	1,14
Potasyum	0,88
Klorür	0,53
Şeker	3,37
Nişasta	30,25
*Rasyon içeriği hazırlanırken yem maddesi olarak; Arpa, Mısır, Pamuk Tohumu Küspesi, Melas, Mermer Tozu ve Vitamin-Mineral Premiksi kullanılmıştır. ** Kullanılan rasyonun her 1 kilogramı için vitamin ve mineral değerleri şu şekildedir: Vitamin A 12.500,00 IU, vitamin D3 3.000,00 IU, vitamin E 25,00 mg, vitamin K3 1,96 mg, vitamin B1 1,97 mg, Vitamin B2 6,00 mg, vitamin B6 2,48 mg, vitamin B12 0,02 mg, mangan 64,00 mg, demir 33,00 mg, çinko 60,00 mg, bakır 15,00 mg, iyot 0,40 mg, selenyum 0,50 mg.	

2.1.5. Moringa Olifera Yağ Ekstresi İçerik Analizi

Moringa olifera yağ ekstresi içerisindeki bileşiklerin konsantrasyonların belirlenmesi, Özel bir araştırma laboratuvarında ASU 64 LFGB L 07.00.40, HPLC-UV/FLD metodu ile yapıldı (Qi vd., 2016). Yapılan analizler sonrasında, *Moringa olifera* ekstresinin fitokimyasal analizlerine sonuçlar Tablo 5'te gösterilmiştir.

Tablo 5: Moringa Olifera Ekstresinin Fitokimyasal Analizlerinin Sonuçları

Fitokimyasal Bileşenler	Miktar
Naftalin	23 µg/kg os
Fenantren	8,5 µg/kg os
Florin	4,4 µg/kg os
Piren	4,1 µg/kg os
Floranten	3,6 µg/kg os
Asenaften	1,7 µg/kg os
antrasen	0,79 µg/kg os
Total yağ içeriği	98,7 g/100g
Doymuş yağ asitleri	22,2 g/100g
Tekli doymamış yağ asitleri	74,2 g/100g
Çoklu doymamış yağ asitleri	3,2 g/100g

Vit A	<5 µg/100 g
Vit D3	<2,5 µg/100 g
Vit E	21 mg/100 g
Lutein	0,25 mg/100g
Zeaksantin	<0,04 mg/100g
Kantaksantin	<0,04 mg/100g
β-kriptoksantin	<0,04 mg/100g
α-karoten	<0,04 mg/100g
β-karoten	<0,04 mg/100g
Likopen	<0,04 mg/100g

2.2. ARAŞTIRMA YÖNTEMİ

2.2.1. Canlı Ağırlık Artışı Hesaplanması

Bu Denemede canlı ağırlık artışları, besi döneminin başlangıcında ve sonra 15 günlük periyodlarla bireysel olarak sabah yemlemesinden önce tartılarak belirlendi. Günlük ortalama canlı ağırlık artışı (GOCAA), iki tartım arasındaki fark gün sayısına bölünerek hesaplandı. Tartımlar 50 g'a hassas özel kafesli bir kantarla yapıldı.

$$\text{GOCAA, g} = \frac{\text{Periyod Sonu Canlı Ağırlık (kg)} - \text{Periyod Başı Canlı Ağırlık (kg)}}{\text{Gün Sayısı}}$$

2.2.2. Yem Tüketiminin Belirlenmesi

Her gün sabah yemlemesinden önce yemliklerde kalan yemler tartılarak günlük tüketilen miktarları hesaplandı. Her grupta on iki adet hayvan birlikte yemlemeye tabi tutulduğu için günlük tüketilen yem miktarları on iki'ye bölünerek bireysel yem tüketimi tespit edildi.

2.2.3. Yem Değerlendirme Oranları

Çalışmada hayvanların günlük yem tüketimlerinin ve canlı ağırlık artışlarının 60 günlük ortalamaları dikkate alınarak 1 kg canlı ağırlık artışı için gerekli olan yem miktarı hesaplanarak yem değerlendirme oranı tespit edildi.

$$\text{Yem Değerlendirme Oranı (YDO), g} = \frac{\text{Günlük Tüketilen Yem Miktarı, g}}{\text{Günlük Canlı Ağırlık Artışı, g}}$$

2.2.4. Nabız, Solunum Sayısı ve Vücut Sıcaklığı Ölçümü

Fizyolojik parametrelerin sirkadiyen değerlendirilmesi amacıyla vücut sıcaklığı, nabız ve solunum sayıları araştırmanın aynı gün ve saatlerinde ölçülmüştür. Nabız ve solunum sayısı stetoskop (Kruuse Stetoskop/DENMARK) yardımı ile sol ön bacağın vücutla birleşme noktasından alınmıştır. Rektal sıcaklık ise dijital termometre (Kruuse Veteriner Termometre/DENMARK) kullanılarak 0.1 duyarlılıkla belirlenmiştir.

2.2.5. Serum Örneklerinin Alınması

Serum örnekleri, çalışmaya dâhil edilen kuzuların boyun toplardamarından (*vena jugularis*) antikoagülansız tüplere (Becton Dickinson Co. USA) 5 ml kan örneği alındı. Tüplere aktarılmış olan kan örnekleri soğutmalı santrifüjde (Hettich 38R, Hettich Zentrifugen, Tuttlingen GERMANY) +4 °C’de 3000 devir/dk da 10 dk santrifüj edildi. Elde edilen serum örnekleri steril ependorf tüplere aktarıldı. Serum örneklerinin aktarıldığı ependorf tüpleri - 80°C’ye ayarlı derin dondurucularda muhafaza edildi.

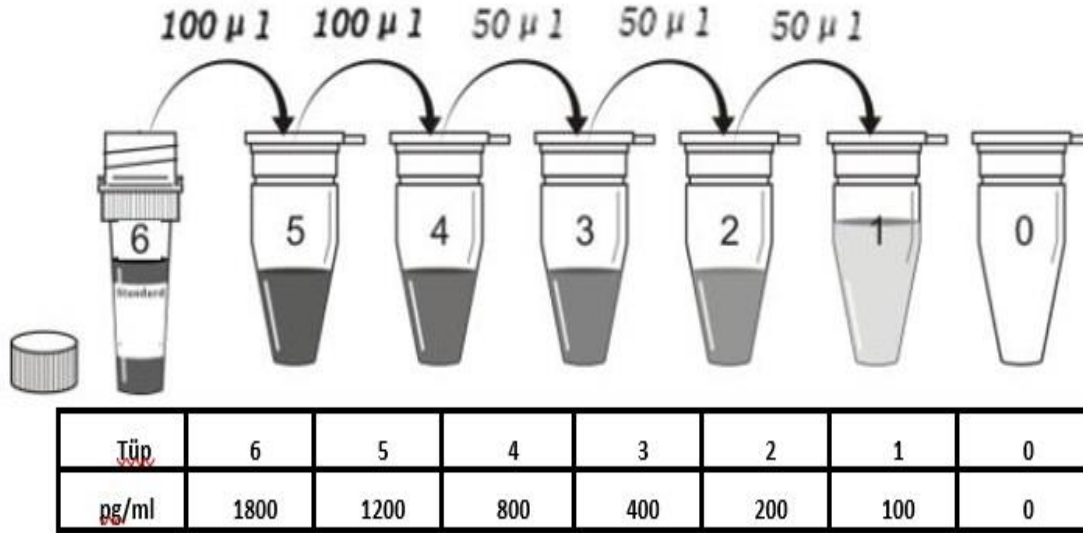
2.2.6. Apelin Hormon Düzeyinin Ölçümü

Araştırma sonucunda elde edilen koyunlara ait kan serum örneklerinde apelin hormon düzeyinin ölçülmesinde kullanılan kitinin minimum saptanabilir konsantrasyonu 35pg/ml- 1600pg/ml ve duyarlılık derecesi ise 16 pg/ml olarak bildirilmiştir. ELISA kiti türe özgü Sheep Apelin ELISA Kit, Product code: SG-70186, CHINA), determinasyonu 1 µg/L-20 µg/L, intra assay katsayısı %8.0, inter assay katsayısı %10.0 kullanılarak üretici firmanın kataloğunda belirtilen prosedüre uygun olarak çalışıldı.

Serum apelin hormon düzeyinin ölçümü ön hazırlık aşamaları;

1. Yıkama solüsyonu hazırlanması için kitte sağlanan konsantre sıvıda kristal oluşumu gözlemlenir ise oda sıcaklığında hafif çalkalayarak homojenize edilir. Konsantre sıvıda kristaller oluşmuşsa, oda sıcaklığına ısıtılır, kristaller tamamen eriyene kadar hafifçe karıştırılır. 600 ml Yıkama Tamponu (1 x) hazırlamak için 20 ml Yıkama Tamponu Konsantresini (30x) deiyonize veya damıtılmış suya seyreltilir.
2. Standartların dilüsyonun hazırlanması için her tüpte 50 µl standart seyreltici pipetlenerek dilüent sıvı konur. Ardından beşinci tüpte 100µl standart (1800pg/ml) solüsyondan pipetlenerek, beşinci tüpten dördüncüye 100µl azaltılır. Karıştırıldıktan sonra miktar %50 azaltılır ve 50 µl alınır. 3-2-1 numaralı tüplere

sırasıyla bu işlem tekrarlanır. Seyreltilmemiş Standart, yüksek standart (1800pg/ml) olarak işlev görür. Numune Seyreltici sıfır standart (boş kuyu) (0ng/ml) olarak işlev görev görür.



Şekil 14: Apelin Hormon Test Kitinde Standart Dilüsyon Oluşturulması

Koyun serum apelin düzeyi ölçümüne ait işlemler şu şekilde gerçekleştirilmelidir.

1. Tüm reaktifleri, çalışma standartlarını, Kör ve numuneneleri prospektüste belirtildiği şekilde hazırlanır.
2. Kullanılacak kuyucukların sayısını belirlemek için tahlil yerleşim sayfasına bakılmalı ve kalan kuyucukları ve kurutucuyu tekrar poşete koyulur ve ziploc'u kapatılır, kullanılmayan kuyucukları 4°C'de saklanmalıdır.
3. Standart kuyucuğu test etmek için standart 50µl pipetlenir, numune kuyucuğuna 40µl numune seyrelticiyi pipetlenir, ardından test numunesi 10µl ekleyin (numune son seyreltme 5 kattır), numuneyi kuyucuklara pipetlenir, kuyu duvarına mümkün olduğunca dokunulmaması gerekir ve yavaşça karıştırılmalıdır.
4. Standartın test edileceği gözlere 50ul standart, numunelerin test edileceği gözlere 40 µl dilüent eklenir ve üzerine 10 µl serum numunesi eklenir. Böylece numune 5 kat seyreltilmiş olur.
5. Test gözleri yapışkan ışık almayacak bir şekilde bant yada folyo ile kaplanarak ve 37 ° C ' de 30 dakika inkübe edilir.
6. Yıkama solüsyonunu hazırlık aşamasında belirtildiği gibi damıtılmış suyla 30 kat sulandırılarak 600 ml yıkama solüsyonu elde edilir.

7. Kapatılmış olan bant-folyo çıkartılır ve test gözleri ters çevrilerek boşaltılır. yıkama tamponunu her kuyucuğa pipetlenir, 30 saniye bekletilir. Ardından bufferlı yıkama solüsyonu ile 5 sefer doldur-boşalt şeklinde yıkanır.
8. Boş olan kontrol gözü hariç tüm gözlere 50 µl HRP işaretli antikor (konjugat) pipetlene eklenir.
9. Dördüncü basamaktaki işlem tekrarlanır.
10. Altıncı basamaktaki işlem tekrarlanır.
11. Kromojen Solution A'dan 50 µl ve Kromojen Solution B'den 50 µl her test gözüne eklenir ve ışık görmeyecek şekilde test gözleri kapatılır. 15dak 37 C°'de inkübe edilir.
12. Her göze kit içerisinde verilmiş olan 6 ml reaksiyon stop solüsyonundan 50 µl eklenir. Bu aşamada renk maviden sarıya dönmelidir.
13. Hesaplama aşamasında, boş kuyuyu sıfır olarak alınır. Reaksiyon durdurma solüsyonu eklendikten 15 dakika okuma işlemine geçilir. Spektrofotometre test plakasında bırakılan kontrol gözü sıfır olacak şekilde 450 nm dalga boyuna ayarlanarak sonuçlar elde edilir.

2.2.7. İrisin Hormon Düzeyinin Ölçümü

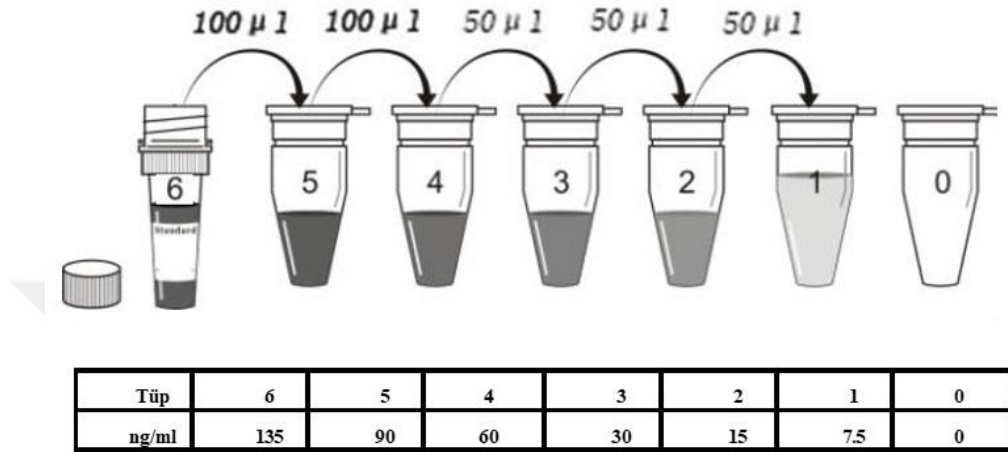
Araştırma sonucunda elde edilen koyunlara ait kan serum örneklerinde irisin hormon düzeyinin ölçülmesinde kullanılan kitinin minimum saptanabilir konsantrasyonu 0.2 ng/ml olarak bildirilmiştir.

ELISA kiti türe özgü Sheep İrisin ELISA Kit, Product code: SG-70787, CHINA, determinasyonu 2 ng/ml-90 ng/ml, intra assay katsayısı %8.0, inter assay katsayısı %10.0 kullanılarak üretici firmanın katalogunda belirtilen prosedüre uygun olarak çalışıldı.

Serum irisin hormon düzeyinin ölçümü ön hazırlık aşamaları,

1. Yıkama solüsyonu hazırlanması: için kitte sağlanan konsantre sıvıda kristal oluşumu gözlemlenir ise oda sıcaklığında hafif çalkalayarak homojenize edilir. Konsantre sıvıda kristaller oluşmuşsa, oda sıcaklığına ısıtılır, kristaller tamamen eriyene kadar hafifçe karıştırılır. 600 ml Yıkama Tamponu (1x) hazırlamak için 20 ml Yıkama Tamponu Konsantresini (30x) deiyonize veya damıtılmış suya seyreltilir.
2. Standartların dilüsyonun hazırlanması: Her tüpte 50 µl standart seyreltici pipetlenerek dilüent sıvı konur. Ardından beşinci tüpte 100 µl standart (135ng/ml)

solüsyondan pipetlenerek, beşinci tüpten dördüncüye 100 µl azaltılır. Karıştırıldıktan sonra miktar %50 azaltılır ve 50 ul alınır. 3-2-1 numaralı tüplere sırasıyla bu işlem tekrarlanır. Seyreltilmemiş Standart, yüksek standart (135ng/ml) işlevi görevi görür. Numune Seyreltici sıfır standart (kör kuyu) (0ng/ml) olarak işlev görür.



Şekil 15: İrisin Hormon Test Kitinde Standart Dilüsyon Oluşturulması

Koyun serum irisin düzeyi ölçümüne ait işlemler şu şekilde gerçekleştirilmelidir.

1. Tüm reaktifleri, çalışma standartlarını, Kör ve numuneneleri prospektüste belirtildiği şekilde hazırlanır.
2. Kullanılacak kuyucukların sayısını belirlemek için tahlil yerleşim sayfasına bakılmalı ve kalan kuyucukları ve kurutucuyu tekrar poşete koyulur ve ziploc'u kapatılır, kullanılmayan kuyucukları 4°C'de saklanmalıdır.
3. Standart kuyucuğu test etmek için standart 50 µl pipetlenir, numune kuyucuğuna 40µl numune seyrelticiyi pipetlenir, ardından test numunesi 10 µl ekleyin (numune son seyreltme 5 kattır), numuneyi kuyucuklara pipetlenir, kuyu duvarına mümkün olduğunca dokunulmaması gerekir ve yavaşça karıştırılmalıdır.
4. Standartın test edileceği gözlere 50 ul standart, numunelerin test edileceği gözlere 40 µl dilüent eklenir ve üzerine 10 µl serum numunesi eklenir. Böylece numune 5 kat seyreltilmiş olur.
5. Test gözleri yapışkan ışık almayacak bir şekilde bant yada folyo ile kaplanarak ve 37°C'de 30 dakika inkübe edilir.
6. Yıkama solüsyonunu hazırlık aşamasında belirtildiği gibi damıtılmış suyla 30 kat sulandırılarak 600 ml yıkama solüsyonu elde edilir.

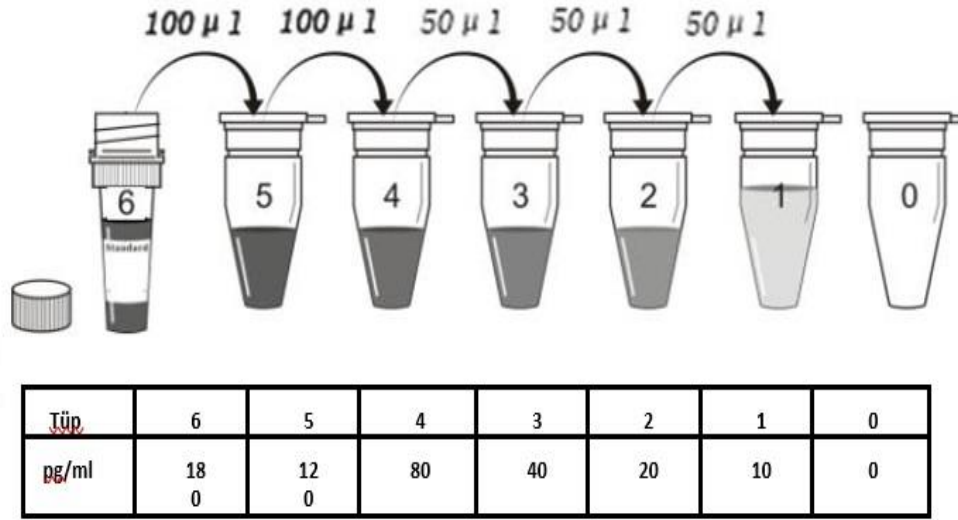
7. Kapatılmış olan bant-folyo çıkartılır ve test gözleri ters çevrilerek boşaltılır. yıkama tamponunu her kuyucuğa pipetlenir, 30 saniye bekletilir. Ardından bufferlı yıkama solüsyonu ile 5 sefer doldur-boşalt şeklinde yıkanır.
8. Boş olan kontrol gözü hariç tüm gözlere 50 µl HRP işaretli antikor (konjugat) pipetlene eklenir.
9. Dördüncü basamaktaki işlem tekrarlanır.
10. Altıncı basamaktaki işlem tekrarlanır.
11. Kromojen Solution A'dan 50 µl ve Kromojen Solution B'den 50 µl her test gözüne eklenir ve ışık görmeyecek şekilde test gözleri kapatılır. 15dak 37 C°'de inkübe edilir.
12. Her göze kit içerisinde verilmiş olan 6 ml reaksiyon stop solüsyonundan 50 µl eklenir. Bu aşamada renk maviden sarıya dönmelidir.
13. Hesaplama aşamasında, boş kuyuyu sıfır olarak alınır. Reaksiyon durdurma solüsyonu eklendikten 15 dakika okuma işlemine geçilir. Spektrofotometre test plakasında bırakılan kontrol gözü sıfır olacak şekilde 450 nm dalga boyuna ayarlanarak sonuçlar elde edilir.

2.2.8. Melatonin Hormon Düzeyinin Ölçümü

Araştırma sonucunda elde edilen kuzulara ait kan serum örneklerinde melatonin düzeyinin ölçülmesinde kullanılan kitinin minimum saptanabilir konsantrasyonu 0.4 pg/ml olarak bildirilmiştir. ELISA kiti türe özgü Sheep Melatonin ELISA Kit (Product code: SG-70132, CHINA), determinasyonu 2.2 pg/ml-140 pg/ml, intra assay katsayısı %8.0, inter assay katsayısı %10.0 kullanılarak üretici firmanın kataloğunda belirtilen prosedüre uygun olarak çalışıldı. Serum Melatonin düzeyi ölçümü ön hazırlık aşamaları,

1. Yıkama solüsyonu hazırlanması: için kitte sağlanan konsantre sıvıda kristal oluşumu gözlemlenir ise oda sıcaklığında hafif çalkalayarak homojenize edilir. Konsantre sıvıda kristaller oluşmuşsa, oda sıcaklığına ısıtılır, kristaller tamamen eriyene kadar hafifçe karıştırılır. 600 ml Yıkama Tamponu (1x) hazırlamak için 20 ml Yıkama Tamponu Konsantresini (30x) deiyonize veya damıtılmış suya seyreltilir.
2. Standartların dilüsyonun hazırlanması: Her tüpte 50 µl standart seyreltici pipetlenerek dilüent sıvı konur. Ardından beşinci tüpte 100 µl standart (180pg/ml) solüsyondan pipetlenerek, beşinci tüpten dördüncüye 100µl azaltılır.

Karıştırıldıktan sonra miktar %50 azaltılır ve 50 µl alınır. 3-2-1 numaralı tüplere sırasıyla bu işlem tekrarlanır.



Şekil 16: Melatonin Hormon Test Kitinde Standart Dilüsyon Oluşturulması

Koyun serum melatonin düzeyi ölçümüne ait işlemler şu şekilde gerçekleştirilmelidir.

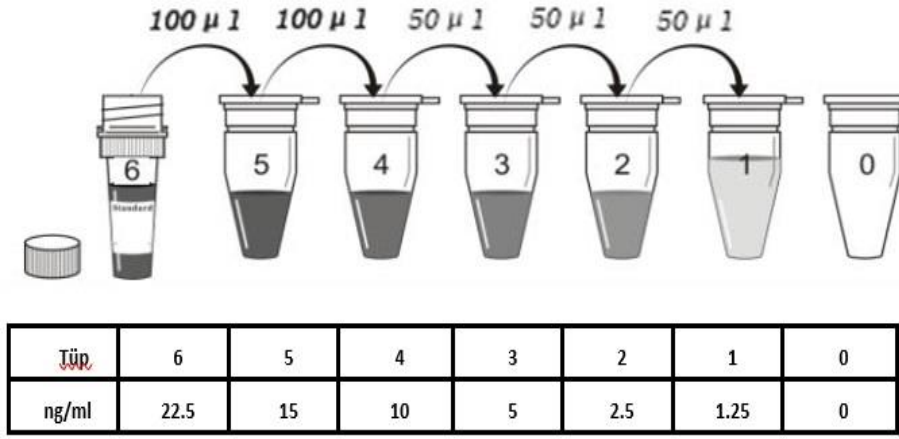
1. Tüm reaktifleri, çalışma standartlarını, Kır ve numuneneleri prospektüste belirtildiği şekilde hazırlanır.
2. Kullanılacak kuyucukların sayısını belirlemek için tahlil yerleşim sayfasına bakılmalı ve kalan kuyucukları ve kurutucuyu tekrar poşete koyulur ve ziploc'u kapatılır, kullanılmayan kuyucukları 4°C'de saklanmalıdır.
3. Standart kuyucuğu test etmek için standart 50 µl pipetlenir, numune kuyucuğuna 40µl numune seyrelticiyi pipetlenir, ardından test numunesi 10µl ekleyin (numune son seyreltme 5 kattır), numuneyi kuyucuklara pipetlenir, kuyu duvarına mümkün olduğunca dokunulmaması gerekir ve yavaşça karıştırılmalıdır.
4. Standartın test edileceği gözlere 50 ul standart, numunelerin test edileceği gözlere 40 µl dilüent eklenir ve üzerine 10 µl serum numunesi eklenir. Böylece numune 5 kat seyreltilmiş olur.
5. Test gözleri yapışkan ışık almayacak bir şekilde bant yada folyo ile kaplanarak ve 37°C ' de 30 dakika inkübe edilir.
6. Yıkama solüsyonunu hazırlık aşamasında belirtildiği gibi damıtılmış suyla 30 kat sulandırılarak 600 ml yıkama solüsyonu elde edilir.
7. Kapatılmış olan bant-folyo çıkartılır ve test gözleri ters çevrilerek boşaltılır. yıkama tamponunu her kuyucuğa pipetlenir, 30 saniye bekletilir. Ardından bufferlı yıkama solüsyonu ile 5 sefer doldur-boşalt şeklinde yıkanır.

8. Boş olan kontrol gözü hariç tüm gözlerle 50 µl HRP işaretli antikor (konjugat) pipetlene eklenir.
9. Dördüncü basamaktaki işlem tekrarlanır.
10. Altıncı basamaktaki işlem tekrarlanır.
11. Kromojen Solution A'dan 50 µl ve Kromojen Solution B'den 50 µl her test gözüne eklenir ve ışık görmeyecek şekilde test gözleri kapatılır. 15dak 37 C°'de inkübe edilir.
12. Her göze kit içerisinde verilmiş olan 6 ml reaksiyon stop solüsyonundan 50 µl eklenir. Bu aşamada renk maviden sarıya dönmelidir.
13. Hesaplama aşamasında, boş kuyuyu sıfır olarak alınır. Reaksiyon durdurma solüsyonu eklendikten 15 dakika okuma işlemine geçilir. Spektrofotometre test plakasında bırakılan kontrol gözü sıfır olacak şekilde 450 nm dalga boyuna ayarlanarak sonuçlar elde edilir.

2.2.9. Beyin ve Kas ARNT-Benzeri Protein 1 (BMAL1) Düzeyinin Ölçümü

Araştırma sonucunda elde edilen kuzulara ait kan serum örneklerinde BMAL 1 düzeyinin ölçülmesinde kullanılan kitinin minimum saptanabilir konsantrasyonu 0.1ng/ml olarak bildirilmiştir. ELISA kiti türe özgü Sheep Brain and Muscle Arnt-Like Protein-1 (BMAL1) ELISA Kit (Product code: SG-70724, CHINA), determinasyonu 0.312ng/ml-20ng/ml, intra assay katsayısı %8.0, inter assay katsayısı %10.0 kullanılarak üretici firmanın kataloğunda belirtilen prosedüre uygun olarak çalışıldı. Serum BMAL1 düzeyi ölçümü ön hazırlık aşamaları,

1. Yıkama solüsyonu hazırlanması için kitte sağlanan konsantre sıvıda kristal oluşumu gözlemlenir ise oda sıcaklığında hafif çalkalayarak homojenize edilir. Konsantre sıvıda kristaller oluşmuşsa, oda sıcaklığına ısıtılır, kristaller tamamen eriyene kadar hafifçe karıştırılır. 600 ml Yıkama Tamponu (1x) hazırlamak için 20 ml Yıkama Tamponu Konsantresini (30x) deiyonize veya damıtılmış suya seyreltilir.
2. Standartların dilüsyonun hazırlanması için her tüpte 50 µl standart seyreltici pipetlenerek dilüent sıvı konur. Ardından beşinci tüpte 100 µl standart (22,5ng/ml) solüsyondan pipetlenerek, beşinci tüpten dördüncüye 100 µl azaltılır. Karıştırıldıktan sonra miktar %50 azaltılır ve 50 µl alınır. 3-2-1 numaralı tüplere sırasıyla bu işlem tekrarlanır. Seyreltilmemiş Standart, yüksek standart görevi görür (22,5ng/ml). Numune Seyreltici sıfır standart (kör kuyu) (0ng/ml) görevi görür.



Şekil 17: BMAL1 Test Kitinde Standart Dilüsyon Oluşturulması

Koyun serum BMAL1 düzeyi ölçümüne ait işlemler şu şekilde gerçekleştirilmelidir.

1. Tüm reaktifleri, çalışma standartlarını, Kır ve numuneneleri prospektüste belirtildiği şekilde hazırlanır.
2. Kullanılacak kuyucukların sayısını belirlemek için tahlil yerleşim sayfasına bakılmalı ve kalan kuyucukları ve kurutucuyu tekrar poşete koyulur ve ziploc'u kapatılır, kullanılmayan kuyucukları 4°C'de saklanmalıdır.
3. Standart kuyucuğu test etmek için standart 50 µl pipetlenir, numune kuyucuğuna 40µl numune seyrelticiyi pipetlenir, ardından test numunesi 10 µl eklenir (numune son seyreltme 5 kattır), numuneyi kuyucuklara pipetlenir, kuyu duvarına mümkün olduğunca dokunulmaması gerekir ve yavaşça karıştırılmalıdır.
4. Standartın test edileceği gözlere 50 ul standart, numunelerin test edileceği gözlere 40 µl dilüent eklenir ve üzerine 10 µl serum numunesi eklenir. Böylece numune 5 kat seyreltilmiş olur.
5. Test gözleri yapışkan ışık almayacak bir şekilde bant yada folyo ile kaplanarak ve 37°C'de 30 dakika inkübe edilir.
6. Yıkama solüsyonunu hazırlık aşamasında belirtildiği gibi damıtılmış suyla 30 kat sulandırılarak 600 ml yıkama solüsyonu elde edilir.
7. Kapatılmış olan bant-folyo çıkartılır ve test gözleri ters çevrilerek boşaltılır. yıkama tamponunu her kuyucuğa pipetlenir, 30 saniye bekletilir. Ardından bufferlı yıkama solüsyonu ile 5 sefer doldur-boşalt şeklinde yıkanır.
8. Boş olan kontrol gözü hariç tüm gözlere 50 µl HRP işaretli antikor (konjugat) pipetlene eklenir.
9. Dördüncü basamaktaki işlem tekrarlanır.

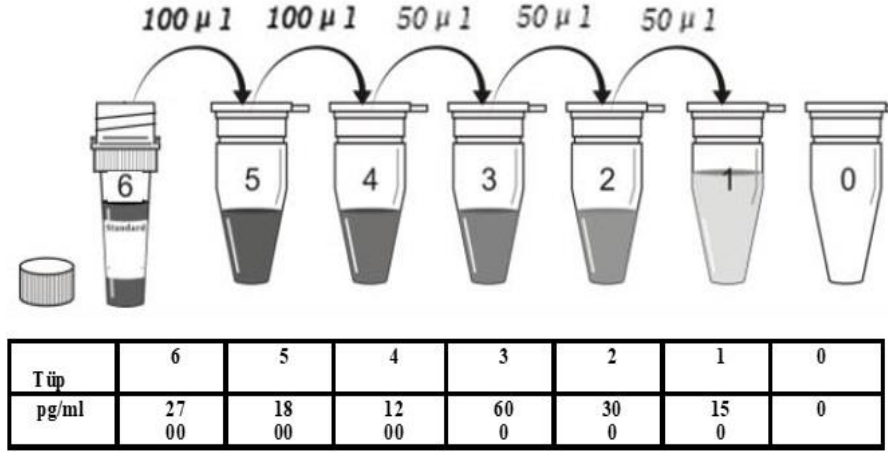
10. Altıncı basamaktaki işlem tekrarlanır.
11. Kromojen Solution A'dan 50 µl ve Kromojen Solution B'den 50 µl her test gözüne eklenir ve ışık görmeyecek şekilde test gözleri kapatılır. 15dak 37 C°'de inkübe edilir.
12. Her göze kit içerisinde verilmiş olan 6 ml reaksiyon stop solüsyonundan 50 µl eklenir. Bu aşamada renk maviden sarıya dönmelidir.
13. Hesaplama aşamasında, boş kuyuyu sıfır olarak alınır. Reaksiyon durdurma solüsyonu eklendikten 15 dakika okuma işlemine geçilir. Spektrofotometre test plakasında bırakılan kontrol gözü sıfır olacak şekilde 450 nm dalga boyuna ayarlanarak sonuçlar elde edilir.

2.2.10. Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF) Düzeyinin Ölçümü

Araştırma sonucunda elde edilen koyunlara ait kan serum örneklerinde BDNF düzeyinin ölçülmesinde kullanılan kitinin minimum saptanabilir konsantrasyonu 6 pg/ml olarak bildirilmiştir. ELISA kiti türe özgü Sheep BDNF ELISA Kit (Product code: SG-70159, CHINA), determinasyonu 33 pg/ml-2000 pg/ml, intra assay katsayısı %8.0, inter assay katsayısı %10.0 kullanılarak üretici firmanın katalogunda belirtilen prosedüre uygun olarak çalışıldı.

Serum BDNF düzeyinin ölçümü ön hazırlık aşamaları,

1. Yıkama solüsyonu hazırlanması için kitte sağlanan konsantre sıvıda kristal oluşumu gözlemlenir ise oda sıcaklığında hafif çalkalayarak homojenize edilir. Konsantre sıvıda kristaller oluşmuşsa, oda sıcaklığına ısıtılır, kristaller tamamen eriyene kadar hafifçe karıştırılır. 600 ml Yıkama Tamponu (1x) hazırlamak için 20 ml Yıkama Tamponu Konsantresini (30x) deiyonize veya damıtılmış suya seyreltilir.
2. Standartların dilüsyonun hazırlanması için her tüpte 50 µl standart seyreltici pipetlenerek dilüent sıvı konur. Ardından beşinci tüpte 100 µl standart (2700pg/ml) solüsyondan pipetlenerek, beşinci tüpten dördüncüye 100 µl azaltılır. Karıştırıldıktan sonra miktar %50 azaltılır ve 50 µl alınır. 3-2-1 numaralı tüplere sırasıyla bu işlem tekrarlanır. Seyreltilmemiş Standart, yüksek standart (2700 pg/ml) olarak işlev görür. Numune Seyreltici, sıfır standart kör kuyu (0 pg/ml) olarak işlev görür.



Şekil 18: BDNF Test Kitinde Standart Dilüsyon Oluşturulması

Koyun serum BDNF düzeyi ölçümüne ait işlemler şu şekilde gerçekleştirilmelidir.

1. Tüm reaktifleri, çalışma standartlarını, Kır ve numuneneleri prospektüste belirtildiği şekilde hazırlanır.
2. Kullanılacak kuyucukların sayısını belirlemek için tahlil yerleşim sayfasına bakılmalı ve kalan kuyucukları ve kurutucuyu tekrar poşete koyulur ve ziploc'u kapatılır, kullanılmayan kuyucukları 4°C'de saklanmalıdır.
3. Standart kuyucuğu test etmek için standart 50 µl pipetlenir, numune kuyucuğuna 40µl numune seyrelticiyi pipetlenir, ardından test numunesi 10µl ekleyin (numune son seyreltme 5 kattır), numuneyi kuyucuklara pipetlenir, kuyu duvarına mümkün olduğunca dokunulmaması gerekir ve yavaşça karıştırılmalıdır.
4. Standartın test edileceği gözlere 50ul standart, numunelerin test edileceği gözlere 40 µl dilüent eklenir ve üzerine 10 µl serum numunesi eklenir. Böylece numune 5 kat seyreltilmiş olur.
5. Test gözleri yapışkan ışık almayacak bir şekilde bant yada folyo ile kaplanarak ve 37°C ' de 30 dakika inkübe edilir.
6. Yıkama solüsyonunu hazırlık aşamasında belirtildiği gibi damıtılmış suyla 30 kat sulandırılarak 600 ml yıkama solüsyonu elde edilir.
7. Kapatılmış olan bant-folyo çıkartılır ve test gözleri ters çevrilerek boşaltılır. yıkama tamponunu her kuyucuğa pipetlenir, 30 saniye bekletilir. Ardından bufferlı yıkama solüsyonu ile 5 sefer doldur-boşalt şeklinde yıkanır.
8. Boş olan kontrol gözü hariç tüm gözlere 50 µl HRP işaretli antikor (konjugat) pipetlene eklenir.
9. Dördüncü basamaktaki işlem tekrarlanır.

10. Altıncı basamaktaki işlem tekrarlanır.
11. Kromojen Solution A'dan 50 µl ve Kromojen Solution B'den 50 µl her test gözüne eklenir ve ışık görmeyecek şekilde test gözleri kapatılır. 15dak 37 C°'de inkübe edilir.
12. Her göze kit içerisinde verilmiş olan 6 ml reaksiyon stop solüsyonundan 50 µl eklenir. Bu aşamada renk maviden sarıya dönmelidir.
13. Hesaplama aşamasında, boş kuyuyu sıfır olarak alınır. Reaksiyon durdurma solüsyonu eklendikten 15 dakika okuma işlemine geçilir. Spektrofotometre test plakasında bırakılan kontrol gözü sıfır olacak şekilde 450 nm dalga boyuna ayarlanarak sonuçlar elde edilir.

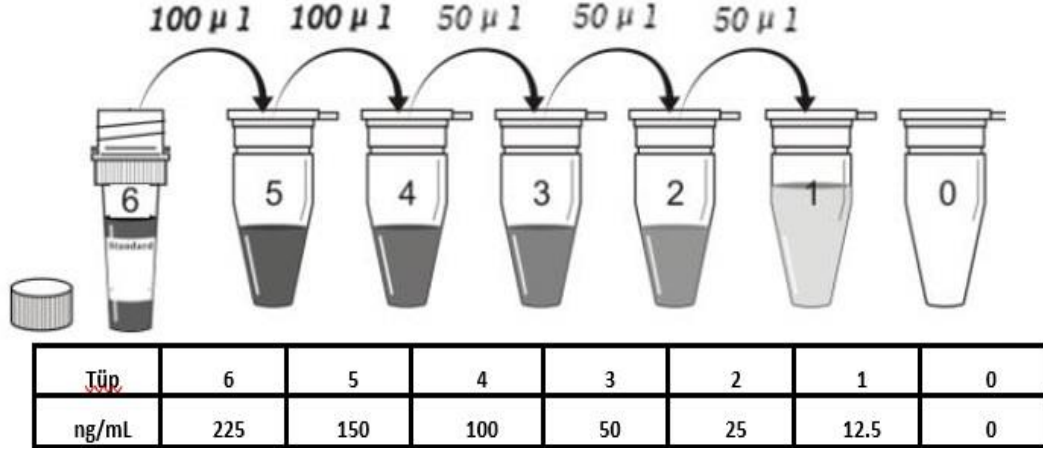
2.2.11. Kortizol Düzeyinin Ölçümü

Araştırma sonucunda elde edilen kuzulara ait kan serum örneklerinde kortizol düzeyinin ölçülmesinde kullanılan kitinin minimum saptanabilir konsantrasyonu 1.7 ng/mL olarak bildirilmiştir.

ELISA kiti türe özgü Sheep Cortisol ELISA Kit (Product code: SG- 70228, CHINA), determinasyonu 4.7 ng/ml-200 ng/ml, intra assay katsayısı %8.0, inter assay katsayısı %10.0 kullanılarak üretici firmanın kataloğunda belirtilen prosedüre uygun olarak çalışıldı.

Serum kortizol hormon düzeyi ölçümü ön hazırlık aşamaları,

1. Yıkama solüsyonu hazırlanması için kitte sağlanan konsantre sıvıda kristal oluşumu gözlemlenir ise oda sıcaklığında hafif çalkalayarak homojenize edilir. Konsantre sıvıda kristaller oluşmuşsa, oda sıcaklığına ısıtılır, kristaller tamamen eriyene kadar hafifçe karıştırılır. 600 ml Yıkama Tamponu (1x) hazırlamak için 20 ml Yıkama Tamponu Konsantresini (30x) deiyonize veya damıtılmış suya seyreltilir.
2. Standartların dilüsyonun hazırlanması için her tüpte 50 µl standart seyreltici pipetlenerek dilüent sıvı konur. Ardından beşinci tüpte 100µl standart (225ng/mL) solüsyondan pipetlenerek, beşinci tüpten dördüncüye 100µl azaltılır.
3. Karıştırıldıktan sonra miktar %50 azaltılır ve 50 µl alınır. 3-2-1 numaralı tüplere sırasıyla bu işlem tekrarlanır. Seyreltilmemiş standart, yüksek standart (225ng/mL) görevi görür. Numune seyreltici sıfır standart (kör kuyu) (0pg/ml) görevi görür.



Şekil 19: Kortizol Hormon Test Kitinde Standart Dilüsyon Oluşturulması

Koyun serum kortizol hormon düzeyi ölçümüne ait işlemler şu şekilde gerçekleştirilmelidir.

1. Tüm reaktifleri, çalışma standartlarını, Kır ve numuneneleri prospektüste belirtildiği şekilde hazırlanır.
2. Kullanılacak kuyucukların sayısını belirlemek için tahlil yerleşim sayfasına bakılmalı ve kalan kuyucukları ve kurutucuyu tekrar poşete koyulur ve ziploc'u kapatılır, kullanılmayan kuyucukları 4°C'de saklanmalıdır.
3. Standart kuyucuğu test etmek için standart 50 µl pipetlenir, numune kuyucuğuna 40µl numune seyrelticiyi pipetlenir, ardından test numunesi 10 µl ekleyin (numune son seyreltme 5 kattır), numuneyi kuyucuklara pipetlenir, kuyu duvarına mümkün olduğunca dokunulmaması gerekir ve yavaşça karıştırılmalıdır.
4. Standartın test edileceği gözlere 50 ul standart, numunelerin test edileceği gözlere 40 µl dilüent eklenir ve üzerine 10 µl serum numunesi eklenir. Böylece numune 5 kat seyreltilmiş olur.
5. Test gözleri yapışkan ışık almayacak bir şekilde bant yada folyo ile kaplanarak ve 37°C ' de 30 dakika inkübe edilir.
6. Yıkama solüsyonunu hazırlık aşamasında belirtildiği gibi damıtılmış suyla 30 kat sulandırılarak 600 ml yıkama solüsyonu elde edilir.
7. Kapatılmış olan bant-folyo çıkartılır ve test gözleri ters çevrilerek boşaltılır. Yıkama tamponunu her kuyucuğa pipetlenir, 30 saniye bekletilir. Ardından bufferlı yıkama solüsyonu ile 5 sefer doldur-boşalt şeklinde yıkanır.
8. Boş olan kontrol gözü hariç tüm gözlere 50 µl HRP işaretli antikor (konjugat) pipetlene eklenir.

9. Dördüncü basamaktaki işlem tekrarlanır.
10. Altıncı basamaktaki işlem tekrarlanır.
11. Kromojen Solution A'dan 50 µl ve Kromojen Solution B'den 50 µl her test gözüne eklenir ve ışık görmeyecek şekilde test gözleri kapatılır. 15dak 37 C°'de inkübe edilir.
12. Her göze kit içerisinde verilmiş olan 6 ml reaksiyon stop solüsyonundan 50 µl eklenir. Bu aşamada renk maviden sarıya dönmelidir.
13. Hesaplama aşamasında, boş kuyuyu sıfır olarak alınır. Reaksiyon durdurma solüsyonu eklendikten 15 dakika okuma işlemine geçilir. Spektrofotometre test plakasında bırakılan kontrol gözü sıfır olacak şekilde 450 nm dalga boyuna ayarlanarak sonuçlar elde edilir.

2.2.12. İstatistiksel Analiz

Yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen veriler SSPS 22 istatistik programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Veriler Repeated measures testi kullanılmıştır. Diğer parametrelerin analizinde ise one way anova kullanılmıştır. Gruplar arasındaki farkın belirlenmesinde Duncan çoklu karşılaştırma uygulanmıştır. Sonuçların değerlendirilmesinde istatistiksel anlamlılık için $p < 0.05$ ve $p < 0.01$ değerleri seçilmiştir.

$$Y_{iek} = \mu + R_i + C_e + R_e (R * C * R)_{ej} + e_{ieek}$$

Burada Y_{iek} bir gözlem, μ genel ortalama, R_i rasyon etkisi, R_e gün etkisi, C_e saat etkisi, $(R * C * R)_{ej}$ etkileşim etkisi ve e_{ijk} deneysel hatadır.

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

3. BULGULAR

3.1. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT CANLI AĞIRLIK DEĞİŞİMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışma kapsamında M0, M200, M400 ve M600 gruplarında yer alan kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerine ait ortalama canlı ağırlık değişimleri Tablo 6’da verilmiştir.

Tablo 6: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Canlı Ağırlık Değerlerinin Değişimi (Ort±SD)

Günler	M0	M200	M400	M600	SEM
Besi Başlangıcı (0. Gün)	23,77±1,18	24,35±0,58	24,25±0,43	23,97±0,40	0,21
15. Gün	27,83±1,13	28,31±0,54	28,34±0,47	28,26±0,37	0,25
30. Gün	32,66±1,13b	33,11±0,60b	34,17±0,41a	33,89±0,37a	0,00
45. Gün	38,72±0,91d	39,24±0,43c	41,02±0,23a	40,55±0,22b	0,00
Besi Sonu (60. Gün)	46,93±0,68c	47,12±0,36c	49,51±0,21a	48,74±0,25b	0,00

M0: *Moringa olifera* yağ ekstresi uygulanmayan grup; M200: kuzuların rasyonuna 200 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; M400: kuzuların rasyonuna 400 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; M600: kuzuların rasyonuna 600 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; Tablodaki her gün ve her takım kendi içerisinde analiz edilmiş ve p<0,05 anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre yemlere *Moringa olifera* yağ ekstresi ilavesinin ilk 15 günde etkisinin olmadığı (p>0,05) ancak 30 günde M400 ve M600 dozunda, 45 günde ise M400 dozunda en iyi sonuçlar elde edilmiştir (p<0,05). Çalışmada rasyona *Moringa olifera* yağ ekstresi ilavesini 0-60 gün aralığında değerlendirdiğimizde ise en iyi sonuçların M400 dozunda olduğu belirlenmiştir (p<0,05).

3.2. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT YEM TÜKETİM ORANININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışma kapsamında M0, M200, M400 ve M600 gruplarında yer alan kuzuların 0-60. günlerine ait ortalama yem tüketimi oranları Tablo 6’da sunulmuştur. Anadolu Merinosu kuzu

rasyonlarına farklı oranlarda ilave edilen *Moringa olifera* yağ ekstresinin besi performansı ve adipokin, serebral, kardiyak, bağırsak ile mitokondriyal fonksiyon yanıtının sirkadiyen değişimi üzerine etkisini incelediğimiz bu çalışmada ilk 15 günlük dönemde en az yem tüketimin M0 en fazla yem tüketimininde M200 ve M400 gruplarda olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). 30 gündeki veriler incelendiğinde kontrol grubuna kıyasla diğer gruplar arasında istatistiksel bir fark oluşmadığı ($p>0,05$) ancak 45 günde ve deneme sonunda en az yem tüketiminin M0 ve M200 gruplarda görülürken en fazla yem tüketiminin 45 günde M400 ve M600 gruplar, deneme sonunda M400 gruplarda yem tüketiminin arttığı görülmüştür ($p<0,05$). 0-60 gün aralığında değerlendirdiğimizde rasyona *Moringa olifera* yağı ekstresi ilavesinin istatistiksel olarak gruplar arasında etkisinin olmadığı ($p>0,05$) tespit edilmiştir (Tablo 7).

Tablo 7: Çalışma Gruplarına Ait Yem Tüketimi Değerlerinin Değişimi (Ort $\pm$ SD)

Günler	M0	M200	M400	M600	SEM
15. Gün	830 $\pm$ 16,32b	852 $\pm$ 22,04a	862 $\pm$ 18,68a	847 $\pm$ 10,93ab	0,02
30. Gün	1059 $\pm$ 16,02	1069 $\pm$ 32,87	1079 $\pm$ 28,47	1087 $\pm$ 14,75	0,17
45. Gün	1256 $\pm$ 23,08b	1243 $\pm$ 20,28b	1301 $\pm$ 16,62a	1281 $\pm$ 22,85a	0,00
Besi Sonu (60. Gün)	1476 $\pm$ 14,58b	1478 $\pm$ 16,84b	1508 $\pm$ 20,22a	1492 $\pm$ 19,56ab	0,01
Besi Başlangıcı-Besi Sonu	753 $\pm$ 20,10	748 $\pm$ 28,58	754 $\pm$ 28,04	750 $\pm$ 33,72	0,98

*Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur. Aynı satırda farklı üst simgeler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak farklıdır ($p<0,05$), *M0: *Moringa olifera* yağ ekstresi uygulanmayan grup; M200: kuzuların rasyonuna 200 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; M400: kuzuların rasyonuna 400 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; M600: kuzuların rasyonuna 600 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; SEM: Ortalamanın standart hatası

3.3. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT CANLI AĞIRLIK ARTIŞLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışma kapsamında M0, M200, M400 ve M600 gruplarında yer alan kuzuların 0-60. günlerine ait ortalama canlı ağırlık artışlarına ait oranlar Tablo 7’de sunulmuştur. Anadolu Merinosu kuzu rasyonlarına farklı oranlarda ilave edilen *Moringa olifera* yağ ekstresinin besi performansı ve adipokin, serebral, kardiyak, bağırsak ile mitokondriyal fonksiyon yanıtının sirkadiyen değişimi üzerine etkisini incelediğimiz bu çalışmada 15 günlük dönemler içerisinde değerlendirdiğimizde rasyona *Moringa olifera* ilavesinin canlı ağırlık artışı üzerine incelediğimizde ilk 15 günlük süreçte M600 dozu ilave edilen gruplarda, 30 günde M400 ve

M600 gruplarda, 45 günde M0, M400 ve M600 gruplarda, 60 günde M0 gruplarda en iyi CAA artışı sağlandığı belirlenmiştir ($p<0,05$). 0-60 gün aralığında bakıldığında canlı ağırlık artışı üzerine rasyona *Moringa olifera* ilavesinn kontrol grubuna kıyasla etkisinin olmadığı belirlenmiştir (Tablo 8) ($p<0,05$).

Tablo 8: Çalışma Gruplarına Ait Canlı Ağırlık Artışları Değerlerinin Değişimi (Ort±SD)

Günler	M0	M200	M400	M600	SEM
15. Gün	0,35±0,03ab	0,30±0,04c	0,33±0,02b	0,36±0,02a	0,00
30. Gün	0,37±0,03b	0,31±0,02c	0,40±0,02a	0,39±0,02a	0,00
45. Gün	0,50±0,02a	0,44±0,02b	0,51±0,01a	0,51±0,02a	0,00
Besi Sonu (60. Gün)	0,66±0,02a	0,58±0,01d	0,64±0,02b	0,61±0,02c	0,00
Besi Başlangıcı-Besi Sonu	0,43±0,03a	0,32±0,02d	0,39±0,02b	0,36±0,02c	0,00

*Veriler ortalama±standart sapma olarak sunulmuştur. Aynı satırda farklı üst simgeler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak farklıdır ($p<0,05$), *M0: *Moringa olifera* yağ ekstresi uygulanmayan grup; M200: kuzuların rasyonuna 200 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; M400: kuzuların rasyonuna 400 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; M600: kuzuların rasyonuna 600 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; SEM: Ortalamanın standart hatası

3.4. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT YEMDEN YARARLANMA ORANININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışma kapsamında M0, M200, M400 ve M600 gruplarında yer alan kuzuların 0-60. günlerine ait ortalama yemden yararlanma oranları Tablo 9’da verilmiştir.

Tablo 9: Çalışma Gruplarına Ait Yemden Yararlanma Oranı Değerlerinin Değişimi (Ort±SD)

Günler	M0	M200	M400	M600	SEM
15. Gün	2,43±0,23bc	2,87±0,34a	2,62±0,19ab	2,35±0,13c	0,00
30. Gün	2,98±0,16b	3,41±0,35a	2,70±0,14c	2,78±0,15bc	0,00
45. Gün	2,48±0,11b	2,83±0,16a	2,55±0,08b	2,53±0,12b	0,00
Besi Sonu (60. Gün)	2,25±0,08c	2,53±0,07a	2,36±0,09b	2,46±0,10a	0,00
Besi Başlangıcı-Besi Sonu	1,78±0,13c	2,35±0,14a	1,95±0,18bc	2,10±0,18b	0,00

*Veriler ortalama±standart sapma olarak sunulmuştur. Aynı satırda farklı üst simgeler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak farklıdır ($p<0,05$), *M0: *Moringa olifera* yağ ekstresi uygulanmayan grup; M200: kuzuların rasyonuna 200 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; M400: kuzuların rasyonuna 400 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; M600: kuzuların rasyonuna 600 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; SEM: Ortalamanın standart hatası

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizi sonucu yemden yaralanma oranı bakımından en yüksek skorun rasyona ekstrakt ilave edilen gruplarda olduğu belirlenirken, en iyi sonuçların dönemsel olarak rasyona M200 dozunda *Moringa olifera* yağı ekstresi ilave edilen gruplarda olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). 0-60 gün aralığında bakıldığında yemden yararlanma oranı bakımından rasyona *Moringa olifera* yağı ekstresi ilavesinin en iyi sonuçların M200 gruplarda olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).

3.5. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SERUM APELİN DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışma kapsamında M0, M200, M400 ve M600 gruplarında yer alan kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki 07:00; 13:00; 19:00; 01:00; 07:00 saatlerindeki dönemlere ait ortalama serum apelin düzeyleri Tablo 10'da verilmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre Gün, Saat, MOE, Gün*Saat, Gün* MOE, Saat* MOE ve Gün*Saat* MOE etkileşimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

Çalışmada gün*grup*saat interaksiyonları incelendiğinde en yüksek değerlerin çalışmanın 0., 15., 45. ve 60. günlerinde M600 ppm doz uygulama gruplarında saat 19:00'da ve aynı şekilde 30. günde ise gün periyodunun tamamlandığı saat 07:00'de yer alan gruplarda belirlenmiştir.

En düşük ortalama serum apelin değerleri ise M0 doz gruplarında 0. gün periyodunun başladığı sabah saat 07:00'de, 15. ve 45. günlerde M0 gruplarında saat 01:00'de, 30. ve 60. günlerde ise M0 ve M200 doz gruplarında saat 01:00'de ölçümü yapılan kuzu gruplarında tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Araştırma süresi boyunca M0, M200, M400 ve M600 gruplarında yer alan kuzulara ait ortalama serum apelin düzeyleri sırasıyla 0,78; 0,81; 0,85 ve 0,90 ng/ml olarak ölçüldü. 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerinde sırasıyla apelin hormon düzeyleri sırasıyla 0,73; 0,74; 0,82; 0,90 ve 0,99 ng/ml belirlenirken; sirkadiyen değişim incelenmesiyle gün periyodu başlangıcı 07:00; 13:00; 19:00; 01:00 ve gün periyodu sonu 07:00 olmak üzere saatlere göre ortalama serum apelin düzeyleri sırasıyla 0,78; 0,88; 0,95; 0,74 ve 0,83 ng/ml olarak tespit edildi.

Çalışmada yer alan kuzuların ortalama apelin düzeyleri grup, gün ve saat yönünden en yüksek düzey, M600 gruplarında, 60. gün ve saat 19:00'da belirlenirken, aynı şekilde en düşük düzey ise M0 gruplarında 0 gün ve saat 01:00'de tespit edilmiştir (Tablo 10), ($p<0,05$).

Tablo 10: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Farklı Gün ve Saatlerinde Kan Alma Dönemlerine Ait Ortalama Serum Apelin (ng/ml) Değerlerinin Değişimi (Ort±SD)

GÜNLER	SAAT	M0	M200	M400	M600	Source of variation (P values)	
0.GÜN	07:00	0,64k	0,663jk	0,694gh	0,722ef	Gün	0,000
	13:00	0,719efg	0,731e	0,762d	0,793c	Saat	0,000
	19:00	0,758d	0,798c	0,834b	0,86a	MOE	0,000
	01:00	0,676hj	0,7fgh	0,731e	0,743de	Gün*saat	0,000
	07:00	0,68hj	0,702fgh	0,723ef	0,742de	Gün* MOE	0,000
15.GÜN	07:00	0,656lm	0,687jk	0,717gh	0,753def	Saat* MOE	0,000
	13:00	0,738fg	0,767cde	0,783c	0,829b	Gün*saat* MOE	0,000
	19:00	0,778cd	0,82b	0,841b	0,895a	Main effect means diet	
	01:00	0,606n	0,637m	0,67kl	0,692hjk	M0	0,786d
	07:00	0,696hjk	0,707hj	0,748ef	0,789c	M200	0,817c
30.GÜN	07:00	0,73mn	0,766kl	0,806ghj	0,836defg	M400	0,852b
	13:00	0,787jkl	0,81fghj	0,838def	0,867d	M600	0,903a
	19:00	0,817efghj	0,847de	0,867d	0,919c	SEM	0,002
	01:00	0,702n	0,718n	0,769kl	0,952b	SAAT	
	07:00	0,757lm	0,795hjk	0,821efgh	1,017a	07:00	0,786d
45.GÜN	07:00	0,782lm	0,823jk	0,864h	0,884gh	13:00	0,884b
	13:00	0,913f	0,95e	0,983d	1,033c	19:00	0,952a
	19:00	1,019c	1,044c	1,072b	1,117a	01:00	0,747e
	01:00	0,732n	0,757mn	0,797kl	0,826j	07:00	0,83c
	07:00	0,814jk	0,857h	0,908fg	0,948e	SEM	0,002
60.GÜN	07:00	0,836mn	0,88l	0,95k	1,031h	GÜNLER	
	13:00	1,045gh	1,072fg	1,112e	1,147cd	0.GÜN	0,734e
	19:00	1,125de	1,163c	1,212b	1,246a	15.GÜN	0,74d
	01:00	0,779p	0,7p	0,817n	0,844mn	30.GÜN	0,821c
	07:00	0,863lm	0,943k	0,989j	1,098ef	45.GÜN	0,906b
SEM			0,009			60.GÜN	0,997a
						SEM	0,002

*MOE: *Moringa olifera* yağ ekstresi; M0: *Moringa olifera* yağ ekstresi uygulanmayan grup; M200: kuzuların rasyonuna 200 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; M400: kuzuların rasyonuna 400 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; M600: kuzuların rasyonuna 600 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; Tablodaki her gün ve her takım kendi içerisinde analiz edilmiş ve p<0,05 anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

3.6. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SERUM İRİSİN DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışma kapsamında M0, M200, M400 ve M600 gruplarında yer alan kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki 07:00; 13:00; 19:00; 01:00; 07:00 saatlerindeki dönemlere ait ortalama serum apelin düzeyleri Tablo 11’de verilmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre Gün, Saat, MOE, Gün*Saat, Gün*MOE, Saat*MOE ve Gün*Saat* MOE etkileşimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

Çalışmada Gün*Saat*MOE interaksiyonları incelendiğinde en yüksek değerlerin çalışmanın 0., 15., 30. ve 45. günlerinde M400 ppm doz uygulama gruplarında saat 19:00’da ve aynı şekilde 60. günde ise saat 13:00’te yer alan gruplarda belirlenmiştir.

En düşük ortalama serum apelin değerleri ise M0 doz gruplarında 0., 15. günlerinde gün periyodunun başladığı sabah saat 07:00; 30. günde ise saat 01:00’de belirlenmişken, 45. ve 60. günde ise M200 doz grubunda saat 01:00’de ölçümü yapılan kuzu gruplarında tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Araştırma süresi boyunca M0, M200, M400 ve M600 gruplarında yer alan kuzulara ait ortalama serum iris düzeyleri sırasıyla 1,12; 1,19; 1,56 ve 1,49 ng/ml olarak ölçüldü. 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerinde sırasıyla 1,12; 1,22; 1,27; 1,48 ve 1,63 ng/ml belirlenirken; sirkadiyen değişim incelenmesiyle gün periyodu başlangıcı 07:00; 13:00; 19:00; 01:00 ve gün periyodu sonu 07:00 olmak üzere saatlere göre ortalama serum iris düzeyleri sırasıyla 1,28; 1,39; 1,48; 1,20 ve 1,37 ng/ml olarak tespit edildi.

Çalışmada yer alan kuzuların ortalama iris düzeyleri grup, gün ve saat yönünden en yüksek düzey, M400 gruplarında, 60. gün ve saat 19:00’da belirlenirken, aynı şekilde en düşük düzey ise M0 gruplarında 0. gün ve saat 01:00’de tespit edilmiştir (Tablo 11), ($p<0,05$).

Tablo 11: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Farklı Gün ve Saatlerinde Kan Alma Dönemlerine Ait Ortalama Serum Irisin (ng/ml) Değerlerinin Değişimi (Ort±SD)

GÜNLER	SAAT	M0	M200	M400	M600	Source of variation (P values)	
0.GÜN	07:00	0,81k	0,903j	1,212de	1,077g	Gün	0,000
	13:00	1,001h	1,073g	1,272bc	1,169ef	Saat	0,000
	19:00	1,16f	1,281b	1,368a	1,384a	MOE	0,000
	01:00	0,912j	0,965h	1,072g	1,01h	Gün*saat	0,000
	07:00	1,076g	1,149f	1,277b	1,223cd	Gün* MOE	0,000
15.GÜN	07:00	0,96k	1,032h	1,322cd	1,238e	Saat* MOE	0,000
	13:00	1,012hj	1,137f	1,414b	1,337cd	Gün*saat* MOE	0,000
	19:00	1,293d	1,358c	1,505a	1,432b	Main effect means diet	
	01:00	0,979jk	1,05gh	1,222e	1,164f	M0	1,123d
	07:00	1,093g	1,175f	1,362c	1,307d	M200	1,198c
30.GÜN	07:00	1,035j	1,079h	1,399d	1,302ef	M400	1,566a
	13:00	1,153g	1,182g	1,533b	1,419cd	M600	1,499b
	19:00	1,258f	1,325e	1,594a	1,504b	SEM	0,003
	01:00	0,96k	1,147g	1,262f	1,181g	SAAT	
	07:00	1,133g	1,161g	1,448c	1,385d	07:00	1,285d
45.GÜN	07:00	1,037n	1,15l	1,823cd	1,77e	13:00	1,392b
	13:00	1,244k	1,299j	1,927b	1,82cd	19:00	1,481a
	19:00	1,284j	1,353h	1,989a	1,914b	01:00	1,203e
	01:00	0,986p	1,028n	1,578f	1,52g	07:00	1,372c
	07:00	1,089m	1,187l	1,857c	1,813d	SEM	0,003
60.GÜN	07:00	1,311k	1,381hj	1,949bcd	1,911d	GÜNLER	
	13:00	1,433fg	1,464f	2,004a	1,957bc	0.GÜN	1,12e
	19:00	1,358j	1,398ghj	1,957bc	1,908d	15.GÜN	1,22d
	01:00	1,129m	1,264l	1,828e	1,793e	30.GÜN	1,273c
	07:00	1,366j	1,416gh	1,985ab	1,938cd	45.GÜN	1,483b
SEM		0,015				60.GÜN	1,638a
						SEM	0,003

* MOE: *Moringa olifera* yağ ekstresi; M0: *Moringa olifera* yağ ekstresi uygulanmayan grup; M200: kuzuların rasyonuna 200 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; M400: kuzuların rasyonuna 400 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; M600: kuzuların rasyonuna 600 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; Tablodaki her gün ve her takım kendi içerisinde analiz edilmiş ve p<0,05 anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

3.7. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SERUM MELATONİN DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışma kapsamında M0, M200, M400 ve M600 gruplarında yer alan kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki 07:00; 13:00; 19:00; 01:00; 07:00 saatlerindeki dönemlere ait ortalama serum melatonin düzeyleri Tablo 12’de verilmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre Gün, Saat, MOE, Gün*Saat etkileşimleri istatistiksel olarak önemli bulunurken ($p<0,05$); Gün*MOE, Saat* MOE ve Gün*Saat* MOE etkileşimi istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$).

Çalışma gün, saat ve MOE, gün ve saat doz grupları interaksiyonları incelendiğinde M0, M200, M400 ve M600 ppm dozu uygulanan gruplarında yer alan kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki 07:00; 13:00; 19:00; 01:00; 07:00 saatlerindeki dönemlere ait ortalama serum melatonin düzeyleri üzerine herhangi bir etkileşim tespit elde edilmemiştir ($p>0,05$).

Araştırma süresi boyunca M0, M200, M400 ve M600 gruplarında yer alan kuzulara ait ortalama serum melatonin düzeyleri sırasıyla 2,55; 2,66; 3,05; 2,83 ng/ml olarak ölçüldü. 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerinde sırasıyla 2,54; 2,67; 2,422; 3,09 ve 3,16 ng/ml belirlenirken; sirkadiyen değişim incelenmesiyle gün periyodu başlangıcı 07:00; 13:00; 19:00; 01:00 ve gün periyodu sonu 07:00 olmak üzere saatlere göre ortalama serum melatonin düzeyleri sırasıyla 2,46; 1,71; 2,74; 4,26; 2,70 ng/ml olarak tespit edildi.

Çalışmada yer alan kuzuların ortalama serum melatonin düzeyleri grup, gün ve saat yönünden en yüksek düzey, M400 gruplarında, 60. günlerde ve saat 01:00’da belirlenirken, en düşük düzey ise M0 gruplarında 30. gün saat 13:00’de belirlenirken bulunan sonuçlar istatistiki açıdan anlamlı bulunmuştur (Tablo 12), ($p<0.05$).

Tablo 12: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Farklı Gün ve Saatlerinde Kan Alma Dönemlerine Ait Ortalama Serum Melatonin (ng/ml) Değerlerinin Değişimi (Ort±SD)

GÜNLER	SAAT	M0	M200	M400	M600	Source of variation (P values)	
0.GÜN	07:00	2,1	2,167	2,633	2,392	Gün	0,000
	13:00	1,392	1,542	1,867	1,633	Saat	0,000
	19:00	2,233	2,342	2,808	2,417	MOE	0,000
	01:00	3,917	3,992	4,125	4,417	Gün*saat	0,000
	07:00	1,958	2,117	2,492	2,308	Gün* MOE	0,875
15.GÜN	07:00	2,15	2,267	2,642	2,458	Saat* MOE	0,107
	13:00	1,458	1,558	2,108	1,8	Gün*saat* MOE	0,347
	19:00	2,475	2,625	2,692	2,758	Main effect means diet	
	01:00	4,133	4,175	4,75	4,467	M0	2,558d
	07:00	2,125	2,067	2,442	2,292	M200	2,661c
30.GÜN	07:00	2,067	2,217	2,608	2,408	M400	3,055a
	13:00	1,4	1,492	1,883	1,567	M600	2,839b
	19:00	2,483	2,617	2,725	2,75	SEM	0,019
	01:00	2,55	2,683	3,058	2,808	SAAT	
	07:00	2,6	2,65	3,117	2,758	07:00	2,46c
45.GÜN	07:00	2,442	2,642	2,867	2,742	13:00	1,717d
	13:00	1,808	1,742	2	1,775	19:00	2,749b
	19:00	2,717	2,942	3,25	3,142	01:00	4,262a
	01:00	4,55	4,683	5,392	4,925	07:00	2,704b
	07:00	2,792	2,933	3,417	3,067	SEM	0,021
60.GÜN	07:00	2,358	2,417	2,942	2,675	GÜNLER	
	13:00	1,775	1,725	2,033	1,775	0.GÜN	2,542d
	19:00	2,7	2,9	3,267	3,142	15.GÜN	2,672c
	01:00	4,825	4,917	5,633	5,242	30.GÜN	2,422e
	07:00	2,942	3,117	3,633	3,25	45.GÜN	3,091b
SEM			0,095			60.GÜN	3,163a
						SEM	0,021

*MOE: *Moringa olifera* yağ ekstresi; MO: *Moringa olifera* yağ ekstresi uygulanmayan grup; M200: kuzuların rasyonuna 200 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; M400: kuzuların rasyonuna 400 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; M600: kuzuların rasyonuna 600 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; Tablodaki her gün ve her takım kendi içerisinde analiz edilmiş ve $p < 0,05$ anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

3.8. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SERUM BMAL1 DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışma kapsamında M0, M200, M400 ve M600 gruplarında yer alan kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki 07:00; 13:00; 19:00; 01:00; 07:00 saatlerindeki dönemlere ait ortalama serum BMAL1 düzeyleri Tablo 13’de verilmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre Gün, Saat, MOE, Gün* MOE, Gün*Saat, Saat* MOE etkileşimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p<0,05$); Gün*Saat* MOE etkileşimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 13), ($p>0,05$).

Çalışma gün, saat ve MOE doz grupları interaksiyonları incelendiğinde M0, M200, M400 ve M600 ppm dozu uygulanan gruplarında yer alan kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60., günlerindeki 07:00; 13:00; 19:00; 01:00; 07:00 saatlerindeki dönemlere ait ortalama serum BMAL1 düzeyleri üzerine herhangi bir etkileşim tespit elde edilmemiştir ($p>0,05$).

Araştırma süresi boyunca M0, M200, M400 ve M600 gruplarında yer alan kuzulara ait ortalama serum BMAL1 düzeyleri sırasıyla 1,37; 1,53; 1,94; 1,72 ng/ml olarak ölçüldü. 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerinde sırasıyla 1,30; 1,26; 1,56; 1,92 ve 2,17 ng/ml belirlenirken; sirkadiyen değişim incelenmesiyle gün periyodu başlangıcı 07:00; 13:00; 19:00; 01:00 ve gün periyodu sonu 07:00 olmak üzere saatlere göre ortalama serum BMAL1 düzeyleri sırasıyla 1,61; 1,97; 1,65 ve 1,22 ng/ml olarak tespit edildi.

Çalışmada yer alan kuzuların ortalama serum BMAL1 düzeyleri grup, gün ve saat yönünden en yüksek düzey, M400 gruplarında, 60. günlerde ve saat 13:00’da belirlenirken, en düşük düzey ise M0 gruplarında 0. ve 15. gün ve saat 01:00’de belirlenirken bulunan sonuçlar istatistiki açıdan anlamlı bulunmuştur (Tablo 13), ($p<0,05$).

Tablo 13: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Farklı Gün ve Saatlerinde Kan Alma Dönemlerine Ait Ortalama Serum BMAL1 (ng/ml) Değerlerinin Değişimi (Ort±SD)

GÜNLER	SAAT	M0	M200	M400	M600	Source of variation (P values)	
0.GÜN	07:00	0,82	1,106	1,64	1,274	Gün	0,000
	13:00	1,283	1,345	1,895	1,548	Saat	0,000
	19:00	1,017	1,259	1,76	1,442	MOE	0,000
	01:00	0,624	1,03	1,221	1,106	Gün*saat	0,000
	07:00	1,176	1,259	1,647	1,542	Gün* MOE	0,000
15.GÜN	07:00	1,063	1,152	1,675	1,314	Saat* MOE	0,000

	13:00	1,365	1,402	1,878	1,616	Gün*saat* MOE	0,445
	19:00	0,973	1,07	1,306	1,247	Main effect means diet	
	01:00	0,703	0,815	1,069	0,988	M0	1,375d
	07:00	1,166	1,249	1,772	1,542	M200	1,539c
	07:00	1,364	1,464	1,806	1,616	M400	1,943a
	13:00	1,657	1,733	2,131	1,932	M600	1,726b
30.GÜN	19:00	1,112	1,394	1,733	1,572	SEM	0,012
	01:00	1,003	1,087	1,37	1,188	SAAT	
	07:00	1,578	1,679	2,018	1,778	07:00	1,612d
	07:00	1,617	1,755	2,193	1,948	13:00	1,97a
	13:00	2,024	2,314	2,666	2,384	19:00	1,652c
45.GÜN	19:00	1,465	1,918	2,292	2,1	01:00	1,22e
	01:00	1,12	1,471	1,633	1,549	07:00	1,776b
	07:00	1,733	1,933	2,293	2,1	SEM	0,013
	07:00	1,87	1,928	2,463	2,166	GÜNLER	
	13:00	2,185	2,353	2,957	2,734	0.GÜN	1,3d
60.GÜN	19:00	2,032	2,163	2,705	2,479	15.GÜN	1,268d
	01:00	1,415	1,511	1,848	1,644	30.GÜN	1,561c
	07:00	2,002	2,082	2,617	2,353	45.GÜN	1,925b
SEM		0,059				60.GÜN	2,175a
						SEM	0,013

*MOE: *Moringa olifera* yağ ekstresi; MO: *Moringa olifera* yağ ekstresi uygulanmayan grup; M200: kuzuların rasyonuna 200 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; M400: kuzuların rasyonuna 400 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; M600: kuzuların rasyonuna 600 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; Tablodaki her gün ve her takım kendi içerisinde analiz edilmiş ve $p<0,05$ anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

3.9. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SERUM BDNF DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışma kapsamında M0, M200, M400 ve Ö600 gruplarında yer alan kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki 07:00; 13:00; 19:00; 01:00; 07:00 saatlerindeki dönemlere ait ortalama serum BDNF düzeyleri Tablo 14'te verilmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre Gün, Saat, MOE, Gün*Saat, Saat*MOE ve Gün*Saat*MOE etkileşimleri istatistiksel olarak önemli bulunurken ($p<0,05$); Gün*MOE etkileşimi istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$).

Çalışmada gün*grup*saat interaksiyonları incelendiğinde ortalama serum BDNF düzeyleri en yüksek çalışmanın 0. gününde M200 ppm doz uygulama gruplarında saat 19:00'da, 15. gününde M200 ppm doz uygulama gruplarında saat 19:00; 15., 30., ve 60. günlerinde saat 13:00'de yer alan gruplarda belirlenmiştir.

45. günde M200 ppm doz uygulama grubunda saat 13:00 ve gün periyodunun tamamlandığı sabah saat 07:00'de ölçümü yapılan kuzu gruplarında tespit edilmiştir ($p<0,05$).

En düşük ortalama serum BDNF değerleri ise 0. gün M400 doz uygulama gruplarında saat 01:00; 15. günde M400 doz saat 01:00; 30. ve 45. günde M0 doz grubunda saat 01:00'de; 60. günde ise M0 grubunda gün periyodunun başladığı sabah saat 07:00'de ölçümü yapılan kuzu gruplarında tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Araştırma süresi boyunca M0, M200, M400 ve M600 gruplarında yer alan kuzulara ait ortalama serum BDNF düzeyleri sırasıyla 0,29; 0,38; 0,32; 0,35 ng/ml olarak ölçüldü.

0., 15., 30., 45. ve 60. günlerinde sırasıyla 0,30; 0,31; 0,34; 0,35 ve 0,37 ng/ml belirlenirken; sirkadiyen değişim incelenmesiyle gün periyodu başlangıcı 07:00; 13:00; 19:00; 01:00 ve gün periyodu sonu 07:00 olmak üzere saatlere göre ortalama serum BDNF düzeyleri sırasıyla 0,32; 0,36; 0,36; 0,29 ve 0,34 ng/ml olarak tespit edildi.

Çalışmada yer alan kuzuların ortalama BDNF düzeyleri grup, gün ve saat yönünden en yüksek düzey, M200 gruplarında, 60. gün ve saat 13:00 ve 19:00'da belirlenirken, aynı şekilde en düşük düzey ise M0 gruplarında 0. gün ve saat 01:00'de tespit edilmiştir (Tablo 14), ($p<0,05$).

Tablo 14: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Farklı Gün ve Saatlerinde Kan Alma Dönemlerine Ait Ortalama Serum BDNF (ng/ml) Değerlerinin Değişimi (Ort±SD)

GÜNLER	SAAT	M0	M200	M400	M600	Source of variation (P values)	
0.GÜN	07:00	0,248k	0,327cd	0,271ghj	0,303ef	Gün	0,000
	13:00	0,268j	0,37ab	0,312de	0,337c	Saat	0,000
	19:00	0,291fg	0,386a	0,325cd	0,357b	MOE	0,000
	01:00	0,271ghj	0,289fgh	0,248k	0,273ghj	Gün*saat	0,000
	07:00	0,269hj	0,358b	0,293ef	0,325cd	Gün* MOE	0,212
15.GÜN	07:00	0,256l	0,336de	0,291jk	0,315efgh	Saat* MOE	0,000
	13:00	0,292jk	0,393a	0,328def	0,358bc	Gün*saat* MOE	0,000
	19:00	0,308fghj	0,398a	0,332de	0,367b	Main effect means diet	
	01:00	0,228m	0,306ghj	0,255l	0,29jk	M0	0,297d
	07:00	0,281k	0,345cd	0,295hjk	0,325defg	M200	0,381a
30.GÜN	07:00	0,278j	0,363d	0,308gh	0,335e	M400	0,324c
	13:00	0,311fgh	0,418a	0,368cd	0,389bc	M600	0,354b
	19:00	0,327efg	0,398ab	0,34e	0,371cd	SEM	0,001
	01:00	0,247k	0,338e	0,293hj	0,33ef	SAAT	
	07:00	0,305h	0,382bcd	0,339e	0,373cd	07:00	0,324c
45.GÜN	07:00	0,298hj	0,388bc	0,328fg	0,363cde	13:00	0,368a
	13:00	0,331fg	0,436a	0,38cd	0,409b	19:00	0,366a
	19:00	0,358de	0,409b	0,374cd	0,386bc	01:00	0,293d
	01:00	0,258k	0,348ef	0,278jk	0,328fg	07:00	0,345b
	07:00	0,319gh	0,434a	0,328fg	0,375cd	SEM	0,002
60.GÜN	07:00	0,32k	0,411cd	0,353hj	0,379efg	GÜNLER	
	13:00	0,352j	0,458a	0,408cd	0,434b	0.GÜN	0,306e
	19:00	0,375fgh	0,421bc	0,391def	0,398de	15.GÜN	0,315d
	01:00	0,283l	0,373fghj	0,301kl	0,32k	30.GÜN	0,341c
	07:00	0,352j	0,435b	0,362ghj	0,411cd	45.GÜN	0,356b
SEM			0,007			60.GÜN	0,377a
						SEM	0,002

*MOE: *Moringa olifera* yağ ekstresi; MO: *Moringa olifera* yağ ekstresi uygulanmayan grup; M200: kuzuların rasyonuna 200 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; M400: kuzuların rasyonuna 400 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; M600: kuzuların rasyonuna 600 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; Tablodaki her gün ve her takım kendi içerisinde analiz edilmiş ve p<0,05 anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

3.10. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SERUM KORTİZOL DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışma kapsamında M0, M200, M400 ve M600 gruplarında yer alan kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki 07:00; 13:00; 19:00; 01:00; 07:00 saatlerindeki dönemlere ait ortalama serum kortizol hormon düzeyleri Tablo 15'te verilmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre Gün, Saat, MOE, Gün*Saat, Gün* MOE, Saat* MOE ve Gün*Saat* MOE etkileşimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Çalışmada gün*grup*saat interaksiyonları incelendiğinde en yüksek kortizol hormon değerleri çalışmanın 0., 30., 45. ve 60. gün M0 grupta gün periyodunun tamamlandığı sabah 07:00'de; 15. günde ise M0 gruplarında gün periyodunun başladığı sabah 07:00'de belirlenmiştir.

En düşük ortalama serum kortizol değerleri ise 0. gün M400 ve M600 doz uygulama gruplarında saat: 01:00'de; 15. gün M600 doz uygulama grubunda saat: 19:00'de; 30. gün M400 ve M600 doz uygulama gruplarında saat: 01:00'de; 45. gün M600 doz uygulama grubunda saat: 19:00'de, 60. günde ise M400 ve M600 grubunda saat: 01:00'de ölçümü yapılan kuzu gruplarında tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Araştırma süresi boyunca M0, M200, M400 ve M600 gruplarında yer alan kuzulara ait ortalama serum kortizol düzeyleri sırasıyla 32,07; 27,66; 23,92 ve 21,68 ng/ml olarak ölçüldü.

0., 15., 30., 45. ve 60. günlerinde ortalama kortizol hormon düzeyleri sırasıyla 25,49; 39,75; 24,04; 22,72 ve 19,66 ng/ml olarak belirlenirken; sirkadiyen değişim incelenmesiyle gün periyodu başlangıcı 07:00; 13:00; 19:00; 01:00 ve gün periyodu sonu 07:00 olmak üzere saatlere göre ortalama serum kortizol hormon düzeyleri sırasıyla 30,36; 27,33; 24,12; 19,69 ve 30,15 ng/ml olarak tespit edildi.

Çalışmada yer alan kuzuların ortalama kortizol hormon düzeyleri grup, gün ve saat yönünden en yüksek düzey, M0 gruplarında, 15. gün ve saat 07:00'de belirlenirken, aynı şekilde en düşük düzey ise M600 gruplarında 60. gün ve saat 01:00'de tespit edilmiştir (Tablo 15), ($p<0,05$).

Tablo 15: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Farklı Gün ve Saatlerinde Kan Alma Dönemlerine Ait Ortalama Serum Kortizol Hormon (ng/ml) Değerlerinin Değişimi (Ort±SD)

GÜNLER	SAAT	M0	M200	M400	M600	Source of variation (P values)	
0.GÜN	07:00	37,075b	27,067f	25,108g	21,108j	Gün	0,000
	13:00	34,2c	29,442d	27,408ef	24,15g	Saat	0,000
	19:00	30,475d	20,675j	19,292k	20,6j	MOE	0,000
	01:00	24,167g	19,208k	17,492l	16,575l	Gün*saat	0,000
	07:00	38,642a	28,275e	26,625f	22,258h	Gün* MOE	0,000
15.GÜN	07:00	56,3a	49,208c	46,492d	42,192e	Saat* MOE	0,000
	13:00	46,4d	41,267ef	36,192h	30,342j	Gün*saat* MOE	0,000
	19:00	42,117e	37,383g	31,408j	26,433k	Main effect means diet	
	01:00	36,8gh	31,067j	25,45k	19,758l	M0	32,076a
	07:00	57,2a	52,55b	46,275d	40,35f	M200	27,661b
30.GÜN	07:00	36,075b	30,183c	24,1f	20,267hj	M400	23,929c
	13:00	30,3c	25,417e	21,258gh	23,333f	M600	21,687d
	19:00	27,408d	23,617f	20,483ghj	19,183k	SEM	0,071
	01:00	23,375f	18,733k	15,792l	15,692l	SAAT	
	07:00	37,292a	27,542d	21,358g	19,567jk	07:00	30,368a
45.GÜN	07:00	30,217b	30,175b	23,1f	21,267g	13:00	27,334b
	13:00	28,35c	25,408e	21,267g	19,775hj	19:00	24,142c
	19:00	25,342e	23,625f	20,525gh	18,383l	01:00	19,69d
	01:00	19,733hjk	18,675kl	16,792m	15,608n	07:00	30,156a
	07:00	31,808a	26,542d	18,717jkl	19,242jkl	SEM	0,079
60.GÜN	07:00	24,492b	23,508cd	20,75e	18,683hj	GÜNLER	
	13:00	21,208e	22,867d	20,342ef	17,75jk	0.GÜN	25,492b
	19:00	20,725e	19,708fg	18,525hj	16,925kl	15.GÜN	39,759a
	01:00	16,342l	15,142m	13,758n	13,642n	30.GÜN	24,049c
	07:00	25,85a	24,233bc	19,708fg	19,092gh	45.GÜN	22,728d
SEM		0,355				60.GÜN	19,663e
						SEM	0,079

*MOE: *Moringa olifera* yağ ekstresi; MO: *Moringa olifera* yağ ekstresi uygulanmayan grup; M200: kuzuların rasyonuna 200 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; M400: kuzuların rasyonuna 400 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; M600: kuzuların rasyonuna 600 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; Tablodaki her gün ve her takım kendi içerisinde analiz edilmiş ve $p<0,05$ anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

3.11. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT NABIZ VERİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışma kapsamında M0, M200, M400 ve M600 gruplarında yer alan kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60., günlerindeki 07:00; 13:00; 19:00; 01:00; 07:00 saatlerindeki dönemlere ait ortalama nabız verileri Tablo 16’da verilmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre Gün, Saat, MOE, Gün*Saat, Gün* MOE ve Gün*Saat* MOE etkileşimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p<0,05$), Saat* MOE etkileşimleri istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (Tablo 16), ($p>0,05$).

Çalışmada gün*grup*saat interaksiyonları incelendiğinde ortalama nabız verilerine ait en yüksek değerler çalışmanın 0. gün M400 ppm dozu saat 13:00’de; 15. gün M200 ppm dozu saat 13:00’de; 30.ve 60. gün M400 ppm dozu saat 13:00’de; 45. gün M600 ppm dozu saat 13:00’de yer alan gruplarda belirlenmiştir.

En düşük ortalama nabız verileri 0. ve 30. gün M400 ppm dozu saat 01:00’de; 15. gün M200 ppm dozu saat 01:00’de; 45. gün M0 ppm dozu saat 07:00’de; 60. gün M600 ppm dozu saat 01:00’de ölçümü yapılan kuzu gruplarında tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Araştırma süresi boyunca M0, M200, M400 ve M600 gruplarında yer alan kuzulara ait ortalama nabız verilerine sırasıyla 85,02; 85,83; 86,89; ve 87, 48 (atım/dk) olarak ölçüldü.

0., 15., 30., 45. ve 60. günlerinde sırasıyla 87,46; 86,67; 87,00; 85,72 ve 84,67 (atım/dk) belirlenirken; sirkadiyen değişim incelenmesiyle gün periyodu başlangıcı 07:00; 13:00; 19:00; 01:00 ve gün periyodu sonu 07:00 olmak üzere saatlere göre ortalama nabız verileri sırasıyla 86,11; 94,04; 92,26; 73,98 ve 85,12 (atım/dk) olarak tespit edildi.

Çalışmada yer alan kuzuların ortalama nabız verileri grup, gün ve saat yönünden en yüksek düzey, M600 gruplarında, 0. gün ve saat 13:00’da belirlenirken, aynı şekilde en düşük düzey ise M0 gruplarında 60. gün ve saat 01:00’de tespit edilmiştir (Tablo 16), ($p<0,05$).

Tablo 16: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Nabız Değerlerinin Değişimi (Ort±SD)

GÜNLER	SAAT	M0	M200	M400	M600	Source of variation (P values)	
0.GÜN	07:00	83,5h	90,75ef	83,833h	83,083h	Gün	0,000
	13:00	96ab	96,417ab	96,917a	96,667ab	Saat	0,000
	19:00	93,667cd	92,25de	94,583bc	95,25bc	MOE	0,000
	01:00	76,5k	77,083k	75,5k	79,667j	Gün*saat	0,000
	07:00	88,583g	89fg	90,25efg	89,75fg	Gün* MOE	0,000
15.GÜN	07:00	88,833fg	86,5hj	89,75ef	90,833e	Saat* MOE	0,346
	13:00	93,833cd	96,417a	95,833ab	94,833abc	Gün*saat* MOE	0,000
	19:00	93,083d	94,5bcd	94,333bcd	95,25abc	Main effect means diet	
	01:00	75,583l	77,167k	78,667k	78,25k	M0	86,223d
	07:00	87,417ghj	86,25j	88,167fgh	87,917ghj	M200	87,03c
30.GÜN	07:00	88,333f	87,583fg	90,25e	88,917f	M400	88,093b
	13:00	93,917cd	94,583c	97,417a	96,333ab	M600	88,677a
	19:00	93d	91,417e	95,917b	96,083ab	SEM	0,107
	01:00	73,833m	74,083m	78,583k	76,833l	SAAT	
	07:00	85,083j	85,333hj	85,917hj	86,5gh	07:00	87,317c
45.GÜN	07:00	87,25fg	84,25jk	87,667f	89,833e	13:00	95,242a
	13:00	93,583c	93,917bc	95,083b	96,75a	19:00	93,467b
	19:00	91,5d	94,583bc	93,417c	93,667c	01:00	75,183e
	01:00	72,167n	70,667p	74,917l	73,5m	07:00	86,321d
	07:00	83,25k	85,083hj	86,083gh	87,417f	SEM	0,119
60.GÜN	07:00	82,75j	86,417f	85,333fg	90,667de	GÜNLER	
	13:00	91,667cd	92,583c	94,667b	97,417a	0.GÜN	88,462b
	19:00	89,917e	92,75c	91,75cd	92,417c	15.GÜN	88,671a
	01:00	71,583m	72,583lm	72,833lm	73,667l	30.GÜN	87,996c
	07:00	80,75k	83,583hj	84,667gh	85,417fg	45.GÜN	86,729d
SEM			0,533			60.GÜN	85,671e
						SEM	0,119

*MOE: *Moringa olifera* yağ ekstresi; MO: *Moringa olifera* yağ ekstresi uygulanmayan grup; M200: kuzuların rasyonuna 200 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; M400: kuzuların rasyonuna 400 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; M600: kuzuların rasyonuna 600 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; Tablodaki her gün ve her takım kendi içerisinde analiz edilmiş ve $p<0,05$ anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

3.12. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SOLUNUM SAYISI VERİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışma kapsamında M0, M200, M400 ve M600 gruplarında yer alan kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki 07:00; 13:00; 19:00; 01:00; 07:00 saatlerindeki dönemlere ait ortalama solunum sayısı verileri Tablo 17’de verilmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre Gün, Saat, MOE, Gün*Saat, Gün* MOE ve Gün*Saat* MOE etkileşimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p<0,05$), Saat* MOE etkileşimleri istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (Tablo 17), ($p>0,05$).

Çalışmada gün*grup*saat interaksiyonları incelendiğinde ortalama solunum sayısı verilerine ait en yüksek değerler çalışmanın 0. gün M400 ppm dozu saat 13:00’de; 15. gün M600 ppm dozu saat 13:00’de; 30. gün M400 ppm dozu saat 13:00’de; 45. gün M600 ppm dozu saat 13:00’de; 60. gün M400 ppm dozu saat 13:00’de yer alan gruplarda belirlenmiştir.

En düşük ortalama nabız verileri 0. Gün M0 doz uygulanmayan grup ve saat 01:00’de; 15. gün M0 ppm dozu saat 01:00’de; 30. gün M200 ppm dozu saat 01:00’de; 45. gün M200 ppm dozu saat 07:00’de; 60. gün M0 ppm dozu saat 07:00’de ölçümü yapılan kuzu gruplarında tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Araştırma süresi boyunca M0, M200, M400 ve M600 gruplarında yer alan kuzulara ait ortalama nabız verilerine sırasıyla 72,87; 73,59; 74,39 ve 75, 46 (adet/dk) olarak ölçüldü.

0., 15., 30., 45. ve 60. günlerinde sırasıyla 87,46; 86,67; 87,00; 85,72 ve 84,67 (atım/dk) belirlenirken; sirkadiyen değişim incelenmesiyle gün periyodu başlangıcı 07:00; 13:00; 19:00; 01:00 ve gün periyodu sonu 07:00 olmak üzere saatlere göre ortalama solunum sayısı verileri sırasıyla 68,62; 89,43; 80,99; 65,28 ve 66,07 (adet/dk) olarak tespit edildi.

Çalışmada yer alan kuzuların ortalama solunum sayısı verileri grup, gün ve saat yönünden en yüksek düzey, M600 gruplarında, 0. gün ve saat 13:00’da belirlenirken, aynı şekilde en düşük düzey ise M0 gruplarında 60. gün ve saat 01:00’de tespit edilmiştir (Tablo 17), ($p<0,05$).

Tablo 17: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Solunum Sayısı Değişimi (Ort±SD)

GÜNLER	SAAT	M0	M200	M400	M600	Source of variation (P values)	
0.GÜN	07:00	69,75def	70,583de	71,083cd	72,667c	Gün	0,000
	13:00	97,167a	97,583a	99,167a	99,083a	Saat	0,000
	19:00	86,083b	86,5b	86,417b	86,167b	MOE	0,000
	01:00	66,417g	67,5fg	68,083fg	68,167fg	Gün*saat	0,000
	07:00	68,833ef	69,083def	68,917def	68,75ef	Gün* MOE	0,000
15.GÜN	07:00	71,167de	71,917d	70,583def	71,417d	Saat* MOE	0,022
	13:00	94,25ab	94,167ab	92,5b	95,583a	Gün*saat* MOE	0,000
	19:00	84,583c	85,333c	86,083c	85,833c	Main effect means diet	
	01:00	66,167j	67,083hj	67,917ghj	70,583def	M0	75,267d
	07:00	68,083ghj	67,167hj	69,333efg	68,583fgh	M200	75,987c
30.GÜN	07:00	67,5jk	70,25gh	72,083g	71,667g	M400	76,797b
	13:00	91,917bc	91,167c	94,417a	93,75ab	M600	77,86a
	19:00	83,083ef	82,75f	85,583d	84,917de	SEM	0,136
	01:00	65,333l	66,583jkl	66,333kl	71,75g	SAAT	
	07:00	67,417jk	67jkl	68,25jk	68,667hj	07:00	70,621c
45.GÜN	07:00	67,833gh	69,25fg	72,417de	73,083d	13:00	92,433a
	13:00	89,417a	90,75a	91,083a	91,25a	19:00	83,975b
	19:00	81,667c	81,417c	81,917c	85,5b	01:00	67,283e
	01:00	66,5h	67,583gh	67,75gh	70,917ef	07:00	68,075d
	07:00	66,583h	66,417h	67,333gh	69,25fg	SEM	0,152
60.GÜN	07:00	69,25f	69,417f	70,417f	70,083f	GÜNLER	
	13:00	84,583c	86,167abc	87,583a	87,083ab	0.GÜN	78,4a
	19:00	79,083e	79,833de	81,333d	85,417bc	15.GÜN	77,417b
	01:00	63,083h	65,417g	66,75g	65,75g	30.GÜN	76,521c
	07:00	65,917g	68,75f	66,583g	70,583f	45.GÜN	75,896d
SEM			0,681			60.GÜN	74,154e
						SEM	0,152

*MOE: *Moringa olifera* yağ ekstresi; MO: *Moringa olifera* yağ ekstresi uygulanmayan grup; M200: kuzuların rasyonuna 200 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; M400: kuzuların rasyonuna 400 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; M600: kuzuların rasyonuna 600 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; Tablodaki her gün ve her takım kendi içerisinde analiz edilmiş ve $p<0,05$ anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

3.13. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT VÜCUT SICAKLIĞI VERİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışma kapsamında M0, M200, M400 ve M600 gruplarında yer alan kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki 07:00; 13:00; 19:00; 01:00; 07:00 saatlerindeki dönemlere ait ortalama vücut sıcaklığı verileri Tablo 18’de verilmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre Gün, Saat, MOE, Gün*Saat, Gün* MOE, Saat* MOE ve Gün*Saat* MOE etkileşimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Çalışmada gün*grup*saat interaksiyonları incelendiğinde en yüksek ortalama vücut sıcaklığı değerleri çalışmanın 0., 15., 30. ve 60. günlerinde M600 ppm doz uygulama gruplarında saat 13:00’de ve aynı şekilde 45. günde ise M600 ppm doz uygulama gruplarında saat 13:00’de yer alan gruplarda belirlenmiştir.

En düşük ortalama vücut sıcaklığı ise M0 doz gruplarında 0., 15. günlerinde gün periyodunun başladığı sabah saat 07:00 ve 01:00; 30. günde M0 doz grubunda saat 01:00’de; 60. günde M200 doz grubunda saat 01:00’de ise ölçümü yapılan kuzu gruplarında tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Araştırma süresi boyunca M0, M200, M400 ve M600 gruplarında yer alan kuzulara ait ortalama vücut sıcaklığı değerleri sırasıyla 38,78; 38,90; 39,03 ve 39,11 C° olarak ölçüldü.

0., 15., 30., 45. ve 60. günlerinde sırasıyla 38,98; 38,92; 38,90; 38,99 ve 38,99 C° belirlenirken; sirkadiyen değişim incelenmesiyle gün periyodu başlangıcı 07:00; 13:00; 19:00; 01:00 ve gün periyodu sonu 07:00 olmak üzere saatlere göre ortalama vücut sıcaklığı değerleri sırasıyla 38,61; 39,84; 39,35; 38,40 ve 38,58 C° olarak tespit edildi.

Çalışmada yer alan kuzuların ortalama vücut sıcaklığı değerleri grup, gün ve saat yönünden en yüksek düzey, M600 gruplarında, 60. gün ve saat 13:00’de belirlenirken, aynı şekilde en düşük düzey ise M0 gruplarında 30. gün ve gün periyodunun tamamlandığı saat 07:00’de tespit edilmiştir (Tablo 18), ($p<0,05$).

Tablo 18: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Solunum Sayısı Değişimi (Ort±SD)

GÜNLER	SAAT	M0	M200	M400	M600	Source of variation (P values)	
0.GÜN	07:00	38,9hjk	38,8jk	39,1gh	39,2g	Gün	0,000
	13:00	39,9d	40,233c	40,483b	40,692a	Saat	0,000
	19:00	39,4f	39,6e	39,7e	39,9d	MOE	0,000
	01:00	38,4n	38,5mn	38,7kl	38,9hjk	Gün*saat	0,000
	07:00	38,6kl	38,8jk	39hj	39,1gh	Gün* MOE	0,000
15.GÜN	07:00	38,6kl	38,9gh	39g	39,2f	Saat* MOE	0,000
	13:00	39,5e	40b	40,35a	40,467a	Gün*saat* MOE	0,000
	19:00	38,9gh	39,7d	39,9bc	39,8cd	Main effect means diet	
	01:00	38,5l	38,5l	38,8hj	38,7jk	M0	39,158d
	07:00	38,9gh	38,7hj	38,9gh	39,2f	M200	39,279c
30.GÜN	07:00	39fg	38,8h	38,9gh	39,3e	M400	39,427b
	13:00	40,208b	40,2b	40,208b	40,442a	M600	39,504a
	19:00	39,8d	39,8d	39,8d	40,008c	SEM	0,011
	01:00	38,8h	38,9gh	39fg	39fg	SAAT	
	07:00	38,9gh	39,1f	39,1f	39fg	07:00	38,988c
45.GÜN	07:00	38,833g	39,2de	39,092ef	38,833g	13:00	40,251a
	13:00	40,2b	40,2b	40,7a	40,3b	19:00	39,735b
	19:00	39,9c	39,783c	39,9c	39,9c	01:00	38,777d
	01:00	38,817g	38,833g	39,2de	39,3d	07:00	38,957c
	07:00	38,967fg	39,2de	39,2de	39,083ef	SEM	0,013
60.GÜN	07:00	38,9gh	39fg	39,2e	39fg	GÜNLER	
	13:00	40,117b	40,117b	40,233b	40,475a	0.GÜN	39,295c
	19:00	39,6d	39,8c	39,6d	39,9c	15.GÜN	39,226d
	01:00	38,6kl	38,5l	38,8hj	38,8hj	30.GÜN	39,413b
	07:00	38,7jk	38,8hj	38,8hj	39,1ef	45.GÜN	39,472a
SEM		0,057		60.GÜN		39,302c	
				SEM		0,013	

*MOE: *Moringa olifera* yağ ekstresi; MO: *Moringa olifera* yağ ekstresi uygulanmayan grup; M200: kuzuların rasyonuna 200 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; M400: kuzuların rasyonuna 400 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; M600: kuzuların rasyonuna 600 ppm düzeyinde *Moringa olifera* yağ ekstresi ilave edilen grup; Tablodaki her gün ve her takım kendi içerisinde analiz edilmiş ve $p < 0,05$ anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER

Sonuç

Sirkadiyen ritim, dünyanın dönüşüyle organizmanın yaklaşık 24 saatlik döngüsünde fizyolojik, biyokimyasal ve biyolojik süreçlerde yaşanan değişimlerdir ve endojen ritimler üreten biyolojik döngülerdir (Zhang vd., 2022). Endokrin sistem, enerji metabolizması, vücut sıcaklığı, uyku-uyanıklık döngüleri, lokomotor aktivite, gastrointestinal sistem motilitesi ile kardiyovasküler fonksiyonların düzenlenmesinde rolü bulunmaktadır (Reppert vd., 2002; Panda vd., 2021; Wang vd., 2022).

Adipoz doku, dolaşımdaki lipidlerin kaynağıdır ve adipokinlerin üretimi ve salgılanmasında rol oynayan ve enerji homeostazında rol oynayan metabolik olarak aktif bir endokrin organdır (Medina-Gómez, 2012). Apelin, G proteinine bağlı reseptör için endojen bir ligand olarak tanımlanan adipoz dokudan salgılanan bir adipokindir (Hu vd., 2021). Apelin, gıda alımı, sıvı homeostazi, hücre çoğalması, kan basıncı regülasyonu, anjiyogenez gibi birçok fizyolojik süreçte önemli rolü bulunmaktadır. Bayraktar vd. (2020a), Akkaraman ırkı koyunlarda ırk, cinsiyet, VKS, laktasyon ve gebeliğin serum apelin seviyeleri üzerine etkilerini inceledikleri araştırmalarında, serum apelin düzeyinin cinsiyet ile VKS, ırk ile cinsiyet ile vücut kondisyon puanı etkileşimlerinin önemli olduğunu ($p<0,05$), koçların VKS'lerinde arasında fark olduğu, ırk ile VKS arasındaki etkileşimin önemli olduğu belirlediklerini bildirmişlerdir. Kuzularda farklı oranda *Moringa olifera* yağ ekstresi kullanımına bağlı serum apelin hormonun sirkadiyen değişiminin incelendiği literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanılmamış olup literatürde benzer araştırma sonuçlarıyla uyumluluk göstermektedir (Charles vd., 2006; Henley vd., 2009; Mercati vd., 2018; Coquerel vd., 2021).

Çalışmamız sonucunda apelin hormonun sirkadiyen ritme sahip olduğunu göstermesinin yanı sıra lipid metabolizması üzerinde iyileştirici etkisi bildirilen *Moringa olifera* yağ ekstresinin sirkadiyen bozulmada terapötik seçenek olarak kullanabilme potansiyeline sahip olabileceği ortaya koyulmuştur. Çalışmamızın 60. günü ve saat 19:00'da ölçülen M400 dozu uygulaması yapılan dönemde serum apelin düzeyinin artması, kuzularda büyümeye bağlı canlı ağırlık artışı için gerekli enerjinin karşılanması amacıyla lipid mobilizasyonundaki artış ile akşam saatleri ve gece boyunca, vücudun enerji depolama ve kullanımındaki ihtiyaç düzeyinin değişkenlik göstermesi, akşam saatlerinde insülin düzeylerinin artışına bağlı olarak yağ asidi oksidasyonunu artması apelin salınımını uyarması ile glukoz metabolizması ve enerji regülasyonu sağlamak amacıyla şekillendiği düşünülmektedir.

Tartışma

İrisin, fibronektin tip III domain içeren protein 5 (FNDC5) olarak isimlendirilen tip I membran proteini bölünmesinin ürünü sonucu meydana gelen 12 kDa moleküler ağırlığa sahip kastan salınan myokin ve adipokindir (Roca-Rivada vd., 2013; Boström vd., 2012). İrisin, beden kitle indeksinin düzenleyicisi indikatör moleküldür (İnci & Aypak, 2016). Bayraktar ve Tekce (2021), Anadolu Merinosu koyunlarında irisin hormon yanıtı üzerinde VKS, laktasyon, gebelik, yaş ve cinsiyetin etkisinin inceledikleri çalışmalarında farklı yaş ve cinsiyet gruplarında ise en düşük ortalama serum irisin hormon düzeyleri VKS<2 grubunda bulunan genç kuzu ve toklularda iken, en yüksek düzey ise VKS ≥4 grubunda yaşlı koyun ve koçlarda tespit edilmiştir. VKS değişimine bağlı olarak farklı yaş, cinsiyet, gebelik ve laktasyon dönemlerinin serum irisin hormonu düzeyi üzerine etkisi ($p<0,05$) olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmaya birlikte irisin hormonun kuzularda sirkadiyen bir ritme sahip olduğu ortaya konulmuştur. Kuzularda farklı oranda *Moringa olifera* yağ ekstresi kullanımına bağlı serum irisin hormonun sirkadiyen değişiminin incelendiği literatürde herhangi bir araştırmaya rastlanılmamış olması nedeniyle kısıtlılık göstermekle birlikte sonuçlarımız literatürde benzer araştırma sonuçlarıyla uyumluluk göstermektedir (Saadatlou vd., 2013; Joung vd., 2015; Chang vd., 2020; Bayraktar & Tekce, 2021).

Çalışmamızda kuzuların büyümeye bağlı canlı ağırlık artışıyla artan kas metabolizmasındaki fizyolojik süreçlere bağlı olarak en yüksek serum irisin düzeyi çalışmanın 60. günü ve saat 19:00'da ölçülen M400 gruplarında, en düşük ortalama serum irisin düzeyi ise 0. gün ve saat 01:00'de M0 gruplarında tespit edilmiştir ($p<0,05$). Bu duruma gerekçe olarak irisin, iskelet kasında glukoz metabolizmasının ve insülin duyarlılığını düzenleyici rolü ile besi süresi sonunda kesim ağırlığı, günlük canlı ağırlık artışının en üst düzeyde olması yani yaş artışına bağlı kas dokudaki artışa bağlı olarak ve özellikle akşam ve gece boyunca metabolik sürecin düzenlenmesi amacıyla ve sirkadiyen ritimle uyumlu olarak serum irisin hormon salınımında artış şekillendiğini ön görmekteyiz.

Melatonin, epifiz bezi tarafından salgılanan, immüностimülan etkiye sahip, uyku/uyanıklık döngüsü, sirkadiyen ritimi düzenleyen bir hormondur (Reiter, 1993; Megha vd., 2024). Melatonin sentezi asetilasyon, metilasyon, hidroksilasyon ve dekarboksilasyon yoluyla gerçekleşmektedir. Amino asit triptofandan bir nörotransmitter olan serotonin, melatoninin birincil öncüsüdür. Geceleyin, noradrenalin α ve β adrenerjik reseptörlerine bağlanarak hücre içi Ca^{2+} 'da bir artışa neden olmaktadır (Zhao vd., 2019).

Hücre içi Ca^{2+} , protein kinaz C'yi (PKC) ve kalsiyum-kalmodulin protein kinazını artırır ve güçlendirir, bu da cAMP'yi ve melatonin sentezindeki hız sınırlayıcı enzimlerin

fosforilasyonunu artırmaktadır (Watson, 2011). Melatonin, mevsimsel üreme aktivitesinin düzenlenmesinde, uyku fizyolojisinin kolaylaştırılmasında, immün sistemin uyarılması, karsinogenezisin baskılanmasında, kök hücre çoğalmasının uyarılması, gıda alımı, inflamasyon ile vücut sıcaklığı ve yaşlanmanın düzenlenmesinde gibi birçok fizyolojik süreçte düzenleyici rolü bulunmaktadır (Bartness vd., 2013).

Koyunlar, mevsime bağlı poliöstrik hayvanlardır. Fotoperiyottaki doğal dalgalanmalar mevsime bağlı melatonin ve tiroid hormonlarının düzenlenmesiyle meydana gelmektedir (Dardente vd., 2010). Çalışmamızın sonuçları serum melatonin düzeyini arttığını bildiren literatürde sunulan araştırma sonuçlarıyla uyumluluk göstermektedir (Carcangiu vd., 2013; Wyse vd., 2018; Duan vd., 2024; Canto & Abecia, 2024; Kuzmenko vd., 2024). Çalışmamızın M400 gruplarında, 60. günlerde ve saat 19:00'da yer alan kuzularda ortalama serum melatonin düzeylerinin en yüksek düzeyde belirlenmesinin ($p<0,05$) beyinde bulunan epifiz bezi tarafından salgılanan ve sirkadiyen ritmi, yani günlük döngüyü senkronize etmede önemli bir rol oynayan ve melatonin hormon fizyolojisi gereği özellikle geceleri salgılanan ve sirkadiyen ritimi düzenlemek amacıyla kaynaklandığı düşünülmektedir.

BDNF, başta beyin, hipokampus ve serebral korteks olmak üzere beyinde yaygın olarak bulunan nörotrofin ailesi içerisinde yer almaktadır (Hofer vd., 1990). BDNF, nöroplastisite, nöronal büyümeyi uyarmasının yanı sıra nöroprotektif etkisi bulunmaktadır (Przybył vd., 2021). BDNF, sinapsların oluşumunu ve stabilizasyonunu destekler, sinaptik iletimi artırır ve sinapsların yapısal ve işlevsel özelliklerini düzenlemektedir. Spesifik reseptörü olan tropomiyosin reseptör kinaz B'ye (TrkB) bağlanarak nöronal fonksiyonda değişikliklere yol açar ve hücre içi sinyal yollarını aktive ederek etkisini göstermektedir (Zhang vd., 2016; Yoo vd., 2017). BDNF düzeyi, stres, yaş, egzersiz, öğrenme, hastalık durumlarına bağlı farklılık göstermektedir (Bath vd., 2013). TrkB reseptör sinyallemede delesyon şekillenmesi, canlı ağırlık artışında artışa neden olması (Pelleymounter vd., 1995), BDNF'nin gıda alımı ile canlı ağırlığının kontrolünde etkisi olabileceği düşünülen nörotrofik bir faktördür (Lebrun vd., 2006).

Çalışmada yer alan kuzuların grup, gün ve saat yönünden sirkadiyen değişimi incelendiğinde ortalama serum BDNF düzeyleri en yüksek, çalışmanın M200 gruplarında 60. günü, saat 13:00 ve 19:00'da belirlenirken, en düşük düzey ise çalışmanın 0. günü ve saat 01:00 M0 gruplarında tespit edilmesi ($p<0,05$) kuzularda BDNF düzeyinde sirkadiyen ritme sahip olduğunu göstermektedir. Kuzularda farklı oranda *Moringa olifera* yağ ekstresi kullanımına bağlı serum BDNF düzeyinin sirkadiyen değişiminin incelendiği literatürde herhangi bir araştırmaya bulunmaması nedeniyle kısıtlılık göstermekle birlikte sonuçlarımız

literatürde benzer araştırma sonuçlarıyla uyumluluk göstermektedir (Przybył vd., 2021; Roszkowicz-Ostrowska vd., 2022).

BDNF ile canlı ağırlık arasındaki ilişki, beyin sağlığı, metabolizma ve genel sağlık üzerinde önemli etkiye sahiptir. Serum BDNF düzeyindeki artışına gerekçe olarak kuzularda canlı ağırlık artışı ile nörotrofik faktör düzeyindeki etkileşime bağlı olarak koyunlarda somatotrofik eksen aktivitesini etkileyerek büyüme hormonu salgılatıcı hormon (GHRH) üzerindeki fizyolojik rolünden kaynaklandığını ön görmekteyiz.

Kortizol, böbrek üstü korteksinin zona fasciculata tabakasından salgılanan ana stres hormonu olarak bilinen glukokortikoid bir hormondur. Hipotalamus-hipofiz-adrenal eksen hem kortizol üretimini hem de salgılanmasını düzenleyici rolü bulunmaktadır (Walker & Seckl, 2001). Kortizol hormon düzeyi, sağlık ve hastalık durumlarının değerlendirilmesine, hayvan refahının değerlendirilmesi hakkında yardımcı olmaktadır. Kortizol, endokrin sistem ile kardiyovasküler fonksiyonlarda dahil olmak üzere belirli biyolojik döngüsel işlevleri kontrol ederek vücudun hemen hemen her dokusunu ve organını etkileyen sirkadiyen sistem üzerinde önemli bir rolü bulunmaktadır (Benarroch, 2008).

Stres, hipotalamus-hipofiz-adrenal eksenini aktive ederek kortizol gibi glukokortikoidlerin salgılanmasını uyarmaktadır. Strese verilen fizyolojik tepki, merkezi sinir sistemi ile endokrin ve bağışıklık sistemlerinin aktivasyonunu içerir ve hayvanın üretim performansını etkilemektedir. Koyunlarda stres nedenleri çevresel faktörler (aşırı sıcaklık veya soğuk hava, gürültü ve diğer çevresel rahatsızlıklar), beslenme (yetersiz veya dengesiz beslenme, ani rasyon değişiklikleri, su kaynaklarının yetersizliği), sosyal faktörler (sürü içindeki hiyerarşi ve rekabet, yalnız kalma veya sürüden ayrılma durumu), sağlık sorunları (hastalıklar, parazit enfestasyonları, yaralanmalar veya fiziksel rahatsızlıklar vb.), insan etkileşimi (sert muamele veya yanlış tutum, aşırı elleçleme veya taşıma, taşıma ve nakil (uzun mesafe taşımalar, yetersiz bakım veya dikkat eksikliği) gibi pek çok neden stres faktörü olabilmektedir. Bu stres faktörleri koyunların sağlığını, verimliliğini ve genel refahını olumsuz etkileyebilmektedir. Bu nedenle stres yönetimi için uygun bakım, düzenli sağlık kontrolleri ve çevresel koşulların iyileştirilmesi koyun yetiştiriciliğinde çok önemlidir. Çalışmada yer alan kuzuların ortalama kortizol hormon düzeyleri grup, gün ve saat yönünden en yüksek düzey, M0 gruplarında, 15. gün ve saat 07:00'de belirlenmesi kuzu besisi başlangıcında sütten kesilen kuzuların adaptasyon sürecine bağlı şekillendiği düşünülmektedir. Aynı şekilde ortalama serum kortizol düzeyinin en düşük M600 gruplarında 60. gün ve saat 01:00'de tespit edilmesi ($p<0,05$) yoğun besi sürecinde görülebilen strese karşı adaptasyon nedeniyle şekillendiği ön görülmektedir. Mevcut sonuçlarımız literatürde

benzer araştırma sonuçlarıyla uyumluluk göstermektedir (Przekop vd., 1985; McMillen vd., 1987; Przekop vd., 1995; Pinto-Santini & Ungerfeld, 2019; Amokrane-Ferrah vd., 2022).

Koyun ve keçiler gün ışığı uzunluğuna bağlı olarak siklik aktivitede mevsimsel değişime sahiptirler. Hipofiz bezinin pars tuberalis'inin agranüler salgı hücreleri, yüksek yoğunlukta melatonin reseptörleri ifade ettikleri ve prolaktin salgılanmasını mevsim ise esas olarak fotoperiyot (gün ışığı oranı) döngüsünde rol almaktadır. Pars tuberalis'te yer alan sirkadiyen saat gen ifadesinin melatonin sinyali aracılığıyla fotoperiyot düzenlenmektedir (Lincoln vd., 2003). Beyin ve kas arıl hidrokarbon reseptör nükleer translokatorü (ARNT) benzeri protein (BMAL1), temel moleküler saat transkripsiyon faktörlerinden biridir ve temel sarmal döngü sarmal-periyot ARNT tek odaklı (bHLH-PAS) transkripsiyon faktörleri ailesinin bir üyesidir (Cardone vd., 2005). Lincoln vd. (2003), BMAL1 ve diğer saat genleri CLOCK, Per1, Per2, Cry1 ve Cry2) SCN'deki yer alan merkezi saat geni tarafından pars tuberalis'te ekprese edilerek 24 saatlik ışık/karanlık döngüsü boyunca salındığı bildirilmektedir. Çalışma gruplarına ait serum BMAL1 düzeyleri, grup, gün ve saat yönünden incelendiğinde en yüksek düzey, M400 gruplarında, 60. günlerde ve saat 13:00'da belirlenirken, en düşük düzey ise M0 gruplarında 0. gün ve gün periyodunun başlangıcı sabah saat 07:00'de tespit edilmesi ($p<0,05$) kuzularda sirkadiyen ritim proteini düzenleyici protein olan BMAL1 düzeyinin sirkadiyen değişime sahip olduğunu kanıtlar niteliktedir. Mevcut sonuçlarımız kuzularda sirkadiyen ritim proteini düzenleyici protein olan BMAL1 düzeyinin sirkadiyen değişime sahip olduğunu kanıtlar niteliktedir. Literatürde kuzu rasyonlarında farklı oranda *Moringa olifera* yağ ekstresi kullanımının serum BMAL1 düzeyi üzerindeki sirkadiyen değişimi üzerine etkisine yönelik herhangi bir araştırmaya rastlanılmamış olmakla birlikte literatürde koyunlarda BMAL1 düzeyinin sirkadiyen bir değişime ait olduğunu bildiren araştırma sonuçlarıyla uyumluluk göstermektedir (Lincoln vd., 2002; Varcoe vd., 2014). Buna gerekçe olarak *Moringa olifera* meyve yağ ekstresi kullanımı neticesinde serum BMAL1 düzeyinin M400 gruplarında en yüksek düzeyde belirlenmesi ile en düşük düzeyin ise *Moringa olifera* yağ ekstresi kullanılmayan M0 gruplarında belirlenmesinin farklı orada *Moringa olifera* yağ ekstresi kullanımı ile içeriğinde yer alan biyoaktif bileşiklerin sirkadiyen ritmi düzenleyici etkisine bağlı olarak şekillenebileceğini ön görmekteyiz.

Yemden yararlanma oranı, hayvanların tükettikleri yem miktarına karşılık elde ettikleri canlı ağırlık artışını gösteren, hayvan beslemede performansın değerlendirilmesinde kullanılan önemli parametrelerden birisidir. Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizi sonucu yemden yararlanma oranı, çalışmanın başlangıcında M400 ile M600 dozu ile çalışmanın 15. gününden sonra M200 dozu etkili olmuştur ($p<0,05$). 0-60 gün aralığında

bakıldığında yemden yararlanma oranı bakımından rasyona *Moringa olifera* yağı ekstresi ilavesinin istatistiksel olarak gruplar arasında etkisinin olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$). Çalışmamızın sonuçları *Moringa olifera* meyve ekstresi kullanımına bağlı olarak yemden yararlanma oranının incelendiği çalışmalar literatürde kısıtlılık göstermekle birlikte ilk çalışma özelliğine sahip olup benzer araştırma sonuçlarıyla uyumluluk göstermektedir (de Lima Júnior vd., 2014; Chukwunomso vd., 2020). Bu duruma gerekçe olarak *Moringa olifera* yağ ekstresi oreksijenik etkisi sayesinde canlı ağırlık artışını uyarması neticesinde (Nwogu vd., 2010) nedeniyle kaynaklandığını öngörmekteyiz. Karlı ve sürdürülebilir besiciliğin amacı, en az maliyetle sağlık içerisinde hayvanlara her gün belirli bir canlı ağırlık artışının kazandırılmasını sağlamayı hedeflemektedir. Kuzularda canlı ağırlık artışı, kuzuların besi performansı hakkında bilgi sunmaktadır. *Moringa olifera* yağ ekstresi, canlı ağırlık artışının sağlanması ile hayvanların sağlık durumunun iyileştirilmesi amacıyla keçi besleme programına dahil edilmesi gerektiğini bildirilmiştir (Chukwunomso vd., 2020).

Mevcut çalışmamızda G, Gün, G*Gün etkileşimleri istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0,05$). G*Gün interaksiyonları incelendiğinde en yüksek ortalama canlı ağırlık değişimi değerleri, çalışmanın 60. gününde bulunan M400 gruplarında belirlenmiştir. En düşük ortalama canlı ağırlık değişimi ise çalışmanın ilk 15 gününde ve M0 gruplarında tespit edilmiştir (Tablo 7), ($p<0,05$). Kuzularda farklı oranda *Moringa olifera* yağ ekstresi kullanımına bağlı canlı ağırlık artışının incelendiği literatürde herhangi bir araştırmaya rastlanılmamış olması nedeniyle kısıtlılık göstermekle birlikte ilk çalışma özelliğine sahip olup benzer araştırma sonuçlarıyla uyumluluk göstermektedir (de Lima Júnior vd., 2014; Chukwunomso Jiwuba, Azodo, & Uzoma, 2020). Buna gerekçe olarak *Moringa olifera* yağ ekstresi oreksijenik etkisi sayesinde canlı ağırlık artışını uyarması neticesinde (Nwogu vd., 2010) kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Sirkadiyen ritim, nabız, solunum sayısı ve vücut sıcaklığı gibi fizyolojik parametreler üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Nabız, kalbin atışlarının damar duvarlarında yarattığı basınç dalgalarının hissedilmesiyle oluşan bir ölçümdür. Kalp atış hızı, ritmi ve düzeni hakkında bilgi verir ve genellikle sağlık durumunun değerlendirilmesinde önemli bir parametredir (Salvi, 2012). Sirkadiyen ritim, kalp atış hızını etkilemektedir. Vücudun enerji harcaması ve dinlenme durumuna bağlı olarak genellikle sabah saatlerinde nabız daha düşükken, akşam ve gece saatlerinde artış gösterebilmektedir (Pavone vd., 2013).

Çalışmada yer alan kuzuların ortalama nabız verileri grup, gün ve saat yönünden en yüksek düzey, M600 gruplarında, 0. gün ve saat 13:00'da belirlenirken, aynı şekilde en düşük düzey ise M0 gruplarında 60. gün ve saat 01:00'de belirlenmiştir ($p<0,05$). Solunum sayısı,

bir bireyin bir dakikada yaptığı nefes alıp verme sayısını ifade etmektedir. Solunum sayısı, vücudun oksijen ihtiyacını ve karbondioksit atımını düzenleyen önemli bir göstergedir (Cretikos vd., 2008). Sirkadiyen ritim, solunum hızını da etkilemektedir. Metabolik ihtiyaca bağlı olarak genellikle uyanırken solunum sayısı daha yüksek, uyku sırasında bu sayı düşüş görülmektedir (Brink vd., 2006).

Çalışmada yer alan kuzuların ortalama solunum sayısı verileri grup, gün ve saat yönünden en yüksek değerleri, M600 gruplarında, 0. gün ve saat 13:00'da belirlenirken, aynı şekilde en düşük değerler ise M0 gruplarında 60. gün ve saat 01:00'de tespit edilmiştir ($p<0,05$). Termoregülasyon, ısı üretimi ile ısı kaybını dengeleyerek fizyolojik çekirdek vücut sıcaklığının korunmasıdır. Sağlıklı bir bireyin çekirdek vücut sıcaklığı $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ($98,6 \pm 0,9^{\circ}\text{F}$)'dır. Vücut sıcaklığı tüm hayati fonksiyonların ve metabolik süreçlerin sürdürülmesi için gereken sıcaklık aralığıdır (Hymczak vd., 2021).

Canlının sağlığı hakkında önemli bilgiler sağlamanın yanı sıra genellikle sabah saatlerinde en düşük seviyedeysen, akşam saatlerinde en yüksek düzeydedir (Morrison, 2016). Koyunların vücut sıcaklığında sirkadiyen bir ritim gözlemlenmektedir (Piccione vd., 2002). Çalışmada yer alan kuzuların ortalama vücut sıcaklığı değerleri grup, gün ve saat yönünden en yüksek düzey, M600 gruplarında, 60. gün ve saat 13:00'de belirlenirken, en düşük değerler ise M0 gruplarında 30. gün ve gün periyodunun tamamlandığı saat 07:00'de tespit edilmiştir ($p<0,05$). Çalışmamızın sonuçları literatürde kısıtlılık göstermekle birlikte mevcut araştırma sonuçlarıyla uyumluluk göstermektedir (Kumar & Lincoln, 1995; Piccione vd., 2008; De, Kumar vd., 2017; Wyse vd., 2018). Buna gerekçe olarak, *Moringa olifera* meyve yağ ekstresi içeriğinde yer alan biyoaktif bileşiklerin nabız, solunum sayısı ve vücut sıcaklığı fizyolojik parametrelerin sirkadiyen değişimi üzerinde düzenleyici etkisine bağlı şekillendiğini ön görmekteyiz.

Öneriler

Sirkadiyen ritim, hayvan sağlığı ve büyümesi ile metabolik süreçler üzerinde önemli etkisi bulunmaktadır (Lin vd., 2018). Metabolik ve enerji regülasyonu ile ilgili süreçlerde adipokinlerden başlıcaları apelin, irisin hormonlarının başlıca önemli rolleri bulunmaktadır. Ayrıca, BMAL1 sirkadiyen ritim düzenleyici protein olarak sirkadiyen değişimlerin incelenmesinde olanak sağlamaktadır. Araştırmamızda farklı oranda 200, 400 ve 600 ppm oranlarında *Moringa olifera* meyvesi yağ ekstresine bağlı olarak yürütülen kuzu besisinde bağlı besi performansı, 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki adipokin, serebral ve bağırsak yanıt ile mitokondriyal durumlarının sirkadiyen değişiminin incelenmesi konusu ilk çalışma olmakla birlikte kuzu besi döneminde irisin, apelin adipokinler ile BDNF, BMALve

kortizolün fizyolojik rollerinin aydınlatılması adına büyük bir öneme sahiptir. Ayrıca ilgili parametreler, kuzu besi performansının değerlendirilmesi ve kuzuların sağlık durumunun değerlendirilmesinde bilgi sunmaktadır. Araştırmamız sonucunda elde edilen verilerin kısıtlı sayıda literatür bulunan bu alana çok önemli katkı sunacağı düşünülmektedir. Ayrıca koyunculuk sektöründe uygulanan besleme programlarının geliştirilmesi ile etkinliklerinin değerlendirilmesinde önemli katkı ve fayda sağlayabileceği öngörülmektedir.



KAYNAKÇA

- Amokrane-Ferrah, A., Anane, A., Boukenaoui-Ferrouk, N., Khaldoun, M., Amirat, Z., Mormede, P., & Khammar, F. (2022). Comparative diurnal and seasonal variations of ACTH, cortisol and aldosterone in Ouled Djellal and D'Man sheep breeds reared in arid lands. *Biodiversitas: Journal of Biological Diversity*, 23(1), 388-395.
- Andanson, S., Boissy, A., & Veissier, I. (2020). Conditions for assessing cortisol in sheep: the total form in blood v. the free form in saliva. *Animal*, 14(9), 1916-1922.
- Babaei, A., Taheri, A. R., & Farahani, I. K. (2013). Nanomolar simultaneous determination of levodopa and melatonin at a new cobalt hydroxide nanoparticles and multi-walled carbon nanotubes composite modified carbon ionic liquid electrode. *Sensors and Actuators B*, 183, 265-272. DOI: 10.1016/j.snb.2013.03.101.
- Bayraktar, B. & Tekce, E. (2021). Anadolu Merinoslarında İrisin hormon yanıtı üzerine bazı fizyolojik parametrelerin etkisi. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 32(2), 145-150.
- Bayraktar, B., Tekce, E., Aksakal, V., Takma, Ç., Bayraktar, F. G. & Şengül, B. (2020a). Effects of Race, Gender, Body Condition Score and Pregnancy on Serum Apelin Levels in Ewe. *Journal of Agricultural Sciences*, 26(3), 363-372.
- Bayraktar, B., Sait, A., Takma, Ç. & Tekce, E. (2020b). Investigation of the relationship of apelin hormone response with some physiological parameters in Maedi-Visna infected sheep. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 71(4), 2539-2548.
- Benarroch, E. E. (2008). Suprachiasmatic nucleus and melatonin: reciprocal interactions and clinical correlations. *Neurology*, 71(8), 594-598.
- Bothwell, M. (1995). Functional interactions of neurotrophins and neurotrophin receptors. *Annual review of neuroscience*, 18(1), 223-253.
- Bolshette, N., Ibrahim, H., Reinke, H., & Asher, G. (2023). Circadian regulation of liver function: from molecular mechanisms to disease pathophysiology. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 20(11), 695-707.
- Borgonovo, G., De Petrocellis, L., Schiano Moriello, A., Bertoli, S., Leone, A., Battezzati, A., & Bassoli, A. (2020). Moringin, a stable isothiocyanate from moringa oleifera, activates the somatosensory and pain receptor TRPA1 channel in vitro. *Molecules*, 25(4), 976.
- Boström, P., Wu, J., Jedrychowski, M. P., Korde, A., Ye, L., Lo, J. C., ... & Spiegelman, B. M. (2012). A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature*, 481(7382), 463-468.
- Bradshaw, R. A., Altın, J. G., Blaber, M., Cavanaugh, K. P., Eveleth, D. D., Kornblum, H. I., ... & Raffioni, S. (1990). Neurotrophic factors in the CNS: biosynthetic processing and functional responses. *Progress in Brain Research*, 86, 157-167.
- Carcangiu, V., Mura, M. C., Parmeggiani, A., Piccione, G., Bini, P. P., Cosso, G., & Luridiana, S. (2013). Daily rhythm of blood melatonin concentrations in sheep of different ages. *Biological Rhythm Research*, 44(6), 908-915.

- Charles, C. J., Rademaker, M. T., & Richards, A. M. (2006). Apelin-13 induces a biphasic haemodynamic response and hormonal activation in normal conscious sheep. *Journal of Endocrinology*, 189(3), 701-710.
- Colitti, M. (2015). Expression of NGF, BDNF and their high-affinity receptors in ovine mammary glands during development and lactation. *Histochemistry and Cell Biology*, 144, 559-570.
- Cuellar-Núñez, M. L., De Mejia, E. G., & Loarca-Piña, G. (2021). Moringa oleifera leaves alleviated inflammation through downregulation of IL-2, IL-6, and TNF- α in a colitis-associated colorectal cancer model. *Food Research International*, 144, 110318.
- Dardente, H., Fustin, J. M., & Hazlerigg, D. G. (2009). Transcriptional feedback loops in the ovine circadian clock. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 153(4), 391-398.
- Dardente, H., Wyse, C. A., Birnie, M. J., Dupré, S. M., Loudon, A. S., Lincoln, G. A., & Hazlerigg, D. G. (2010). A molecular switch for photoperiod responsiveness in mammals. *Current Biology*, 20(24), 2193-2198.
- Davies, A. M., & Wright, E. M. (1995). Neurotrophic factors: neurotrophin autocrine loops. *Current Biology*, 5(7), 723-726.
- DeNicolo, G., Morris, S. T., Kenyon, P. R., Morel, P. C. H., & Parkinson, T. J. (2008). Melatonin-improved reproductive performance in sheep bred out of season. *Animal Reproduction Science*, 109(1-4), 124-133.
- Fahey, J. W. (2005). *Moringa oleifera: A review of the medicinal evidence for its nutritional, therapeutic, and prophylactic properties*. Part 1. Trees Life J, 1, 5.
- Fatima, N., & Rana, S. (2020). Metabolic implications of circadian disruption. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*, 472, 513-526.
- Fulkerson, W. J., & Tang, B. Y. (1979). Ultradian and circadian rhythms in the plasma concentration of cortisol in sheep. *Journal of Endocrinology*, 81(1), 135-141.
- Gallardo, A., Belmonte-Reche, E., Marti-Marimon, M., Domingo-Reines, J., Peris, G., Lopez-Onieva, L., & Landeira, D. (2024). *BMAL1 represses transposable elements independently of CLOCK in pluripotent cells*. bioRxiv, 2024-06.
- Gao, Z., Zhong, X., Tan, Y. X., & Liu, D. (2021). Apelin 13 alleviates diabetic nephropathy by enhancing nitric oxide production and suppressing kidney tissue fibrosis. *International Journal of Molecular Medicine*, 48(3), 1-9.
- Habata, Y., Fujii, R., Hosoya, M., Fukusumi, S., Kawamata, Y., Hinuma, S., & Fujino, M. (1999). Apelin, the natural ligand of the orphan receptor APJ, is abundantly secreted in the colostrum. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1452(1), 25-35.
- Hanson, I. M., Seawright, A., & van Heyningen, V. (1992). The human BDNF gene maps between FSHB and HVBS1 at the boundary of 11p13-p14. *Genomics*, 13(4), 1331-1333.

- Howells, D. W., Porritt, M., Wong, J. Y. F., Batchelor, P. E., Kalnins, R., Hughes, A. J., & Donnan, G. A. (2000). Reduced BDNF mRNA expression in the Parkinson's disease substantia nigra. *Experimental Neurology*, 166(1), 127-135.
- Huang, N., Chelliah, Y., Shan, Y., Taylor, C.A., Yoo, S. H., Partch, C., & Takahashi, J.S. (2012). Crystal structure of the heterodimeric CLOCK: BMAL1 transcriptional activator complex. *Science*, 337(6091), 189-194.
- Hymczak, H., Gołąb, A., Mendrala, K., Plicner, D., Darocha, T., Podsiadło, P., ... & Kosiński, S. (2021). Core temperature measurement—principles of correct measurement, problems, and complications. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(20), 10606.
- Kalsbeek, A., & Buijs, R. M. (2002). Output pathways of the mammalian suprachiasmatic nucleus: coding circadian time by transmitter selection and specific targeting. *Cell and tissue research*, 309, 109-118.
- Kang, H., & Schuman, E. M. (1995). Long-lasting neurotrophin-induced enhancement of synaptic transmission in the adult hippocampus. *Science*, 267(5204), 1658-1662.
- Koike, N., Yoo, S. H., Huang, H. C., Kumar, V., Lee, C., Kim, T. K., & Takahashi, J. S. (2012). Transcriptional architecture and chromatin landscape of the core circadian clock in mammals. *Science*, 338(6105), 349-354.
- Kondratov, R.V., Kondratova, A. A., Gorbacheva, V. Y., Vykhovanets, O. V., & Antoch, M. P. (2006). Early aging and age-related pathologies in mice deficient in BMAL1, the core component of the circadian clock. *Genes & development*, 20(14), 1868-1873.
- Korte, M., Carroll, P., Wolf, E., Brem, G., Thoenen, H., & Bonhoeffer, T. (1995). Hippocampal long-term potentiation is impaired in mice lacking brain-derived neurotrophic factor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(19), 8856-8860.
- Lane, J. M., Qian, J., Mignot, E., Redline, S., Scheer, F. A., & Saxena, R. (2023). Genetics of circadian rhythms and sleep in human health and disease. *Nature Reviews Genetics*, 24(1), 4-20.
- Lebrun B., Bariohay B., Moyse E., Jean A. (2006). Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and food intake regulation: a minireview. *Autonomic Neuroscience*, 126-127, 30-38.
- Lefta, M., Campbell, K. S., Feng, H. Z., Jin, J. P., & Esser, K. A. (2012). Development of dilated cardiomyopathy in Bmal1-deficient mice. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 303(4), H475-H485.
- Leone, A., Spada, A., Battezzati, A., Schiraldi, A., Aristil, J., & Bertoli, S. (2015). Cultivation, genetic, ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of *Moringa oleifera* leaves: An overview. *International journal of molecular sciences*, 16(6), 12791-12835.
- Lewin, G. R., & Barde, Y. A. (1996). Physiology of the neurotrophins. *Annual review of neuroscience*, 19(1), 289-317.

- Li, Y. X., Zhang, Y., Lester, H. A., Schuman, E. M., & Davidson, N. (1998). Enhancement of neurotransmitter release induced by brain-derived neurotrophic factor in cultured hippocampal neurons. *Journal of Neuroscience*, 18(24), 10231-10240.
- Liao, P. C., Lai, M. H., Hsu, K. P., Kuo, Y. H., Chen, J., Tsai, M. C., & Chao, L. K. P. (2018). Identification of β -sitosterol as in vitro anti-inflammatory constituent in *Moringa oleifera*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 66(41), 10748-10759.
- Lin, X., Liu, Y., Meng, T., Xie, C., Wu, X. & Yin, Y. (2018). Circadian calcium feeding regime in laying hens related to zinc concentration, gene expression of circadian clock, calcium transporters and oxidative status. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 50, 518-526.
- Lin, T., Zhao, Y., Guo, S., Wu, Z., Li, W., Wu, R., ... & Liu, W. (2022). Apelin-13 protects neurons by attenuating early-stage postspinal cord injury apoptosis in vitro. *Brain Sciences*, 12(11), 1515.
- Lu, B., & Figurov, A. (1997). Role of neurotrophins in synapse development and plasticity. *Reviews in the neurosciences*, 8(1), 1-12.
- Lv, S. Y., Yang, Y. J., Qin, Y. J., Mo, J. R., Wang, N. B., Wang, Y. J., & Chen, Q. (2012). Central apelin-13 inhibits food intake via the CRF receptor in mice. *Peptides*, 33(1), 132-138.
- Mallenakuppe, R., Homabalegowda, H., Gouri, M. D., Basavaraju, P. S., & Chandrashekharaiah, U. B. (2015). *History, Taxonomy and Propagation of Moringa Oleifera—a Review*. *Crops*, 3(3.28), 3-15.
- Maurya, S. K., & Singh, A. K. (2014). Clinical efficacy of *Moringa oleifera* Lam. stems bark in urinary tract infections. *International Scholarly Research Notices*, 2014(1), 906843.
- McDearmon, E. L., Patel, K. N., Ko, C. H., Walisser, J. A., Schook, A. C., Chong, J. L., & Takahashi, J. S. (2006). Dissecting the functions of the mammalian clock protein BMAL1 by tissue-specific rescue in mice. *Science*, 314(5803), 1304-1308.
- McKay, L. I., & Cidlowski, J. A. (1999). Molecular control of immune/inflammatory responses: interactions between nuclear factor- κ B and steroid receptor-signaling pathways. *Endocrine Reviews*, 20(4), 435-459.
- McMillen, I. C., Thorburn, G. D., & Walker, D. W. (1987). Diurnal variations in plasma concentrations of cortisol, prolactin, growth hormone and glucose in the fetal sheep and pregnant ewe during late gestation. *Journal of Endocrinology*, 114(1), 65-72.
- Messaoudi, E., Bårdsen, K., Srebro, B., & Bramham, C. R. (1998). Acute intrahippocampal infusion of BDNF induces lasting potentiation of synaptic transmission in the rat dentate gyrus. *Journal of Neurophysiology*, 79(1), 496-499.
- Meyer, N., Harvey, A. G., Lockley, S. W., & Dijk, D.J. (2022). Circadian rhythms and disorders of the timing of sleep. *The Lancet*, 400(10357), 1061-1078.
- Michalski, B., & Fahnstock, M. (2003). Pro-brain-derived neurotrophic factor is decreased in parietal cortex in Alzheimer's disease. *Molecular Brain Research*, 111(1-2), 148-154.

- Misztal, T., Romanowicz, K., & Barcikowski, B. (1996). Seasonal changes of melatonin secretion in relation to the reproductive cycle in sheep. *J Anim Feed Sci*, 5, 35-48.
- Molaakbari, E., Mostafavi, A., & Beitollahi, H. (2015). Simultaneous electrochemical determination of dopamine, melatonin, methionine and caffeine. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 208, 195-203.
- Molik, E., Błasiak, M., Misztal, T., Romanowicz, K., & Zięba, D. A. (2017). *Profile of gonadotropic hormone secretion in sheep with disturbed rhythm of seasonality*.
- More, S., Gogate, P., Waghmare, J., & Naik, S. N. (2018). Intensified synthesis of structured lipids from oleic acid rich moringa oil in the presence of supercritical CO₂. *Food and bioproducts processing*, 112, 86-95.
- Ndong, M., Uehara, M., Katsumata, S.I., & Suzuki, K. (2007). Effects of oral administration of Moringa oleifera Lam on glucose tolerance in Goto-Kakizaki and Wistar rats. *Journal of clinical biochemistry and nutrition*, 40(3), 229-233.
- Oakley, R. H., Cruz-Topete, D., He, B. O., Foley, J. F., Myers, P. H., Xu, X., & Cidlowski, J. A. (2019). Cardiomyocyte glucocorticoid and mineralocorticoid receptors directly and antagonistically regulate heart disease in mice. *Science signaling*, 12(577), eaau9685.
- O'Byrne, N. A., Yuen, F., Butt, W. Z., & Liu, P. Y. (2021). Sleep and circadian regulation of cortisol: a short review. *Current opinion in endocrine and metabolic research*, 18, 178-186.
- O'Callaghan, D. (1999). *A Practical Approach to the Management of Reproductive Seasonality in Sheep*. Reproduction in Domestic Animals, 34.
- Parvathy, M. V. S., & Umamaheshwari, A. (2007). Cytotoxic effect of Moringa oleifera leaf extracts on human multiple myeloma cell lines. *Trends in Medical Research*, 2(1), 44-50.
- Paikra, B. K., & Gidwani, B. (2017). Phytochemistry and pharmacology of Moringa oleifera Lam. *Journal of Pharmacopuncture*, 20(3), 194.
- Pevet, P., Agez, L., Bothorel, B., Saboureau, M., Gauer, F., Laurent, V., & Masson-Pévet, M. (2006). Melatonin in the multi-oscillatory mammalian circadian world. *Chronobiology International*, 23(1-2), 39-51.
- Piccione, G., Caola, G., & Refinetti, R. (2002). Maturation of the daily body temperature rhythm in sheep and horse. *Journal of Thermal Biology*, 27(5), 333-336.
- Piccione, G., Giannetto, C., Casella, S. & Caola, G. (2008). Circadian activity rhythm in sheep and goats housed in stable conditions. *Folia Biologica (Kraków)*, 56(3-4), 133-137.
- Pinto-Santini, L., & Ungerfeld, R. (2019). The phase of the estrous cycle modifies the endocrine, metabolic and behavior rhythms in ewes. *Physiology & Behavior*, 204, 324-335.
- Podyma, B., Parekh, K., Güler, A.D., & Deppmann, C. D. (2021). Metabolic homeostasis via BDNF and its receptors. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 32(7), 488-499.

- Przybył, B.J., Szlis, M., & Wójcik-Gładysz, A. (2020). Brain-derived neurotrophic factor affects mRNA and miRNA expression of the appetite regulating centre in the sheep arcuate nucleus. *Annals of Animal Science*, 20(3), 853-869.
- Przybył, B. J., Wójcik-Gładysz, A., Gajewska, A., & Szlis, M. (2021). Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) affects somatotrophic axis activity in sheep. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 30(4), 329-339.
- Przekop, F., Stupnicka, E., Wolińska-Witort, E., Mateusiak, K., Sadowski, B., & Domański, E. (1985). Changes in circadian rhythm and suppression of the plasma cortisol level after prolonged stress in the sheep. *European Journal of Endocrinology*, 110(4), 540-545.
- Ralph, C. R., & Tilbrook, A. J. (2016). Invited review: The usefulness of measuring glucocorticoids for assessing animal welfare. *Journal of Animal Science*, 94(2), 457-470.
- Reaux, A., De Mota, N., Skultetyova, I., Lenkei, Z., El Messari, S., Gallatz, K., & Llorens-Cortès, C. (2001). Physiological role of a novel neuropeptide, apelin, and its receptor in the rat brain. *Journal of Neurochemistry*, 77(4), 1085-1096.
- Reppert, S.M., & Weaver, D. R. (2002). Coordination of circadian timing in mammals. *Nature*, 418(6901), 935-941.
- Riaz, A., Rasul, A., Hussain, G., Zahoor, M. K., Jabeen, F., Subhani, Z., & Selamoglu, Z. (2018). Astragalin: a bioactive phytochemical with potential therapeutic activities. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, 2018(1), 9794625.
- Rosa, H. J., & Bryant, M. J. (2003). Seasonality of reproduction in sheep. *Small ruminant research*, 48(3), 155-171.
- Roszkowicz-Ostrowska, K., Młotkowska, P., Kowalczyk, P., Marciniak, E., Barszcz, M., & Misztal, T. (2022). Central Stimulatory Effect of Kynurenic Acid on BDNF-TrkB Signaling and BER Enzymatic Activity in the Hippocampal CA1 Field in Sheep. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(1), 136.
- Salem, H. B., & Makkar, H. P. S. (2009). Defatted Moringa oleifera seed meal as a feed additive for sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 150(1-2), 27-33.
- Sapolsky, R. M., Romero, L. M., & Munck, A. U. (2000). How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocrine reviews*, 21(1), 55-89.
- Sarih, K., Siradjuddin, S., Maddepungeng, M., Hadju, V., Saleh, A., & Tanziha, I. (2020). *Moringa oleifera* intake during pregnancy and breastfeeding toward docosaheptaenoic acid and arachidonic acid levels in breast milk. *Journal of Medical Sciences*.
- Schiaffino, S., Blaauw, B., & Dyar, K. A. (2016). The functional significance of the skeletal muscle clock: lessons from BMAL1 knockout models. *Skeletal Muscle*, 6(1), 33.
- Simonetta, G., Walker, D. W., & McMillen, I. C. (1991). Effect of feeding on the diurnal rhythm of plasma cortisol and adrenocorticotrophic hormone concentrations in the pregnant ewe and sheep fetus. *Experimental Physiology: Translation and Integration*, 76(2), 219-229.

- Singh, B. N., Singh, B. R., Singh, R. L., Prakash, D., Dhakarey, R., Upadhyay, G., & Singh, H. B. (2009). Oxidative DNA damage protective activity, antioxidant and anti-quorum sensing potentials of *Moringa oleifera*. *Food and Chemical Toxicology*, 47(6), 1109-1116.
- Tatemoto, K., Hosoya, M., Habata, Y., Fujii, R., Kakegawa, T., Zou, M. X., ... & Fujino, M. (1998). Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 251(2), 471-476.
- Tatemoto, K., Takayama, K., Zou, M. X., Kumaki, I., Zhang, W., Kumano, K. & Fujimiya, M. (2001). The novel peptide apelin lowers blood pressure via a nitric oxide-dependent mechanism. *Regulatory Peptides*, 99(2-3), 87-92.
- Teng, K. K., & Hempstead, B. L. (2004). Neurotrophins and their receptors: signaling trios in complex biological systems. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 61, 35-48.
- Timmusk, T., Palm, K., Metsis, M., Reintam, T., Paalme, V., Saarma, M., & Persson, H. (1993a). Multiple promoters direct tissue-specific expression of the rat BDNF gene. *Neuron*, 10(3), 475-489.
- Timmusk, T., Belluardo, N., Metsis, M., & Persson, H. (1993b). Widespread and developmentally regulated expression of neurotrophin-4 mRNA in rat brain and peripheral tissues. *European Journal of Neuroscience*, 5(6), 605-613.
- Upadhyay, P., Yadav, M. K., Mishra, S., Sharma, P., & Purohit, S. (2015). *Moringa oleifera*: A review of the medical evidence for its nutritional and pharmacological properties. *International Journal of Research in Pharmacy & Science*, (2).
- Varcoe, T. J., Gatford, K. L., Voultsios, A., Salkeld, M. D., Boden, M. J., Rattanatrasy, L., & Kennaway, D. J. (2014). Rapidly alternating photoperiods disrupt central and peripheral rhythmicity and decrease plasma glucose, but do not affect glucose tolerance or insulin secretion in sheep. *Experimental Physiology*, 99(9), 1214-1228.
- Von Gall, C., Weaver, D. R., Moek, J., Jilg, A., Stehle, J. H., & Korf, H. W. (2005). Melatonin plays a crucial role in the regulation of rhythmic clock gene expression in the mouse pars tuberalis. *Annals of The New York academy of Sciences*, 1040(1), 508-511.
- Walker, B. R., & Seckl, J. R. (2001). Cortisol metabolism. *International Textbook of Obesity*, 241-268.
- Watson, R. R. (Ed.). (2011). *Melatonin in the Promotion of Health*. CRC Press.
- Wyse, C. A., Zhang, X., McLaughlin, M., Biello, S. M., Hough, D., Bellingham, M., & Evans, N. P. (2018). Circadian rhythms of melatonin and behaviour in juvenile sheep in field conditions: Effects of photoperiod, environment and weaning. *Physiology & Behavior*, 194, 362-370.
- Yan, B., Shi, X., Zhang, H., Pan, L., Ma, Z., Liu, S., & Li, Z. (2014). Association of serum irisin with metabolic syndrome in obese Chinese adults. *PloS One*, 9(4), e94235.
- Yoo, J. M., Lee, B. D., Sok, D. E., Ma, J. Y., & Kim, M. R. (2017). Neuroprotective action of N-acetyl serotonin in oxidative stress-induced apoptosis through the activation of both

TrkB/CREB/BDNF pathway and Akt/Nrf2/Antioxidant enzyme in neuronal cells. *Redox Biology*, 11, 592-599.

Zavala, E., Gil-Gómez, C. A., Wedgwood, K. C., Burgess, R., Tsaneva-Atanasova, K., & Herrera-Valdez, M. A. (2020). Dynamic modulation of glucose utilisation by glucocorticoid rhythms in health and disease. *BioRxiv*, 2020-02.

Zhang, J. C., Yao, W., & Hashimoto, K. (2016). Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)-TrkB signaling in inflammation-related depression and potential therapeutic targets. *Current neuropharmacology*, 14(7), 721-731.

Zhang, M., Hettiarachchy, N. S., Horax, R., Kannan, A., Praissoody, M. A., Muhundan, A., & Mallangi, C. R. (2011). Phytochemicals, antioxidant and antimicrobial activity of Hibiscus sabdariffa, Centella asiatica, Moringa oleifera and Murraya koenigii leaves. *J. Med. Plants Res*, 5(30), 6672-6680.

Zhang, L., Li, F., Su, X., Li, Y., Wang, Y., Fang, R., & Liang, H. (2019). Melatonin prevents lung injury by regulating apelin 13 to improve mitochondrial dysfunction. *Experimental & Molecular Medicine*, 51(7), 1-12.

Zhang, C., Ma, T., Tu, Y., Ma, S. & Diao, Q. (2022). Effects of circadian rhythm and feeding modes on rumen fermentation and microorganisms in Hu Sheep. *Microorganisms*, 10(12), 2308.

Zhao, D., Yu, Y., Zhao, Z., Sharma, R., & Reiter, R. J. (2019). Melatonin synthesis and function: evolutionary history in animals and plants. *Frontiers in Endocrinology*, 10, 441357.

EKLER

Ek 1: Deney Hayvanları İle Çalışma İzin Formu

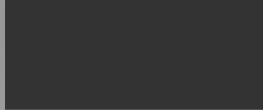
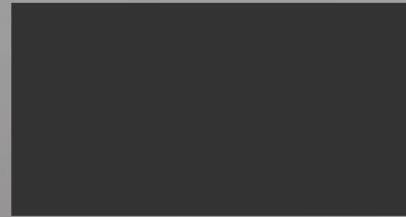
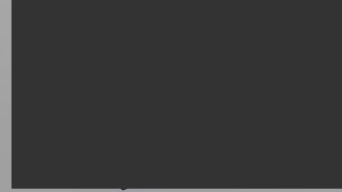
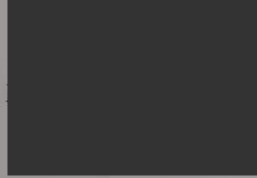
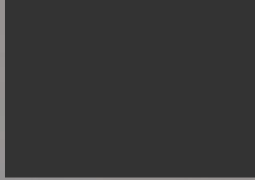
VETERİNER KONTROL MERKEZ ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ YEREL ETİK KURULU

DENEY HAYVANLARI İLE ÇALIŞMA İZİN FORMU

KARAR TARİHİ:
26.10.2022

KARAR NO: 2022/28

Talepte Bulunan Bölüm	Deney Hayvanları Ünitesi
Yapılacak Deneyisel Çalışma	İlle de France Kuzu Rasyonlarına Farklı Dozlarda Moringa Olifera Yağ Ektresi İlavesinin Adipokin (İrisin, Apelin, BDNF) Yanıtı ile Beyin ve Kas Arnt-Benzeri 1 (BMAL1) Protein Seviyesi ve Bazı Biyokimyasal Parametrelerin Sirkadiyen Değişiminin İncelenmesi
Kullanılacak Deney Hayvanı Türü, Miktarı, Cinsi	40 adet, İlle de france kuzu
Deney Hayvanlarının Temin Edildiği Yer	Dışardan temin
Talepte Bulunan Bölüm Yetkilisi	Dr. Ufuk ÜLKER/Deney Hayvanları Ünitesi
Talep Tarihi	17.10.2022
KARAR	Enstitü yerel etik kurulu yönergesinin 7/1 maddesi kapsamında rutin teşhis uygulaması olması nedeniyle Proje sonuçlanıncaya kadar izin verilmesi oybirliği ile UYGUN görülmüştür.



Ek 2: Çalışma İzin Formu

ERZİNCAN İLİ KONY HAYVANCILIK KOYUN İŞLETMESİ

ERZİNCAN

Konu: Tez Çalışması İzin Hk.

Sn. Şeref Hakan AKTÜRK

(Bayburt Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Organik Tarım İşletmeciliği A.B.D.)

Bayburt Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Organik Tarım İşletmeciliği Ana Bilim Dalında Doktora Tezi çalışması kapsamında “İlle de France Kuzu Rasyonlarında Farklı Dozlarda moringa Olifera Yağ Ekstresi ilavesinin Adipokin (Irisin, Apelin, BDNF) Yanıtı ile Beyin ve Kas Arıt-benzeri 1 (BMAL1) Protein Seviyesi ve BazıBiyokimyasal Parametrelerin Sirkadiyen Değişimin İncelenmesi” başlıklı konulu tez çalışmanıza ilişkin izin talebini bildiren dilekçeniz işletmemizce incelenerek değerlendirilmiştir.

Değerlendirme sonucunda ismi belirtilen tez çalışmanız kapsamında yürütülecek çalışma için, Erzincan İli, Üzümlü İlçesi'ne bağlı Karakya Köyü sınırlarında bulunan Kony Hayvancılık Koyun İşletmesi isimli işletmemizin hayvan varlığının ve diğer fiziksel imkanlarının kullanılmasında herhangi bir sakınca bulunmamaktadır.



ÖZ GEÇMİŞ

.... yılında [REDACTED] doğdu. İlk ve orta öğrenimini Erzincan'da tamamladıktan sonra yılında Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nde lisans ve yılında Atatürk Üniversitesinde Nanotıp Yüksek Lisans eğitimini tamamladı. yıllarında serbet veteriner hekimlik, yılları arasında Tarım Orman Bakanlığı taşra teşkilatlarında veteriner hekimlik, yılları arası Erzincan Valiliği AB ve Dış İlişkiler Bürosu Koordinatörlüğü yaptı. yılında Et ve Süt Kurumu Erzincan Tavuk Kombinasına geçmiş ve şuan müdür yardımcısı görevini yürütmektedir. Evli ve iki çocuk babasıdır.

