



**T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
Hayvan Besleme Ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı**

**DONÖR BESLEMEDE KORUNMUŞ METİYONİN  
KULLANILMASININ EMBRİYO KALİTESİ ÜZERİNE  
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Hazırlayan  
Kurtuluş GÖK**

**Danışman  
Prof. Dr. Berrin KOCAOĞLU GÜÇLÜ**

**Doktora Tezi**

**Şubat 2016  
KAYSERİ**

**T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI  
ANABİLİM DALI**

**DONÖR BESLEMEDE KORUNMUŞ  
METİYONİN KULLANILMASININ EMBRİYO KALİTESİ  
ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Hazırlayan  
Kurtuluş GÖK**

**Danışman  
Prof. Dr. Berrin KOCAOĞLU GÜÇLÜ**

**Doktora Tezi**

**Şubat 2016  
KAYSERİ**

## BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmada tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zaman da bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Adı Soadı: Kurtuluş GÖK

İmza:

## YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

**‘Donör Beslemede Korunmuş Metiyonin Kullanılmasının Embriyo Kalitesi Üzerine Etkisinin Araştırılması’** adlı **Doktora Tezi** Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Kurtuluş GÖK

Danışman

Prof. Dr. Berrin KOCAOĞLU GÜÇLÜ

Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Erol BAYTOK

**Prof. Dr. Berrin KOCAOĞLU GÜÇLÜ** danışmanlığında Kurtuluş GÖK tarafından hazırlanan ‘**Donör Beslemede Korunmuş Metiyonin Kullanılmasının Embriyo Kalitesi Üzerine Etkisinin Araştırılması**’ adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı**’nda **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

15/02/2016

### JÜRİ

Danışman: Prof. Dr. Berrin KOCAOĞLU GÜÇLÜ (Erc. Üni. Hay. Bes. ve Besl. Hast. AD)

Üye : Prof. Dr. Erol BAYTOK ( Erc. Üni. Hay. Bes. ve Besl. Hast. AD)

Üye : Doç. Dr. Bilal AKYÜZ (Erc.Üni. Genetik AD)

Üye : Yrd. Doç. Dr. Recep GÜMÜŞ (Cumhuriyet Ün. Hay. Bes. ve Besl. Hast. AD)

Üye : Yrd. Doç. Dr. Seyrani MERSİN (Siirt Ün. Döl. ve Suni Toh. AD)

### ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun .....tarih ve.....sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../2016

Prof. Dr. Aykut ÖZDARENDELİ  
Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı'nda çalışmalarımı yönlendiren her aşamasında bilgi öneri ve yardımlarını esirgemeyerek gelişmeye katkıda bulunan ve her zaman yanımda olan danışman hocam Prof. Dr. Berrin KOCAOĞLU GÜÇLÜ'ye, eğitimim boyunca yakın ilgi ve desteğiyle yanımda olan Prof. Dr. Erol BAYTOK'a, çalışmamda bana yardımcı olan Pozantı Gıda, Tarım ve Hayvancılık İlçe Müdürlüğünde Veteriner Hekim olarak çalışan Aysun TEKGÜL'e, Lalahan Merkez Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğünde çalışan Dr. S. Hamdi KIZIL'a, Siirt Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalında çalışan Yrd. Doç. Dr. Seyrani MERSİN'e, Aksaray Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalında çalışan Yrd. Doç. Dr. Tahir KARAŞAHİN'e, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı'nda çalışan Prof. Dr. Tayfur BEKYÜREK'e, Benden gülyüz ve hoşgörü ve yardımlarını hiç esirgemeyen çok değerli Hayvan Sağlığı ve Yetiştiriciliği Şube Müdürü Ergün TUĞLUK ve mesai arkadaşlarıma, Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğünde çalışan Dr. Tugay AYAŞAN ve Dr. Hatice HIZLI'ya, sevgilerini ve desteklerini benden hiç esirgemeyen eşim Gülay ERMİŞ GÖK ve çocuklarım Asım Furkan Gök ve Beril GÖK'e sonsuz teşekkürler...

# **DONÖR BESLEMEDE KORUNMUŞ METİYONİN KULLANILMASININ EMBRİYO KALİTESİ ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Kurtuluş GÖK**

**Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

**Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı**

**Doktora Tezi, Şubat 2016**

**Danışman: Prof. Dr. Berrin KOCAOĞLU GÜÇLÜ**

## **ÖZET**

Bu çalışmanın amacı donör ineklerde korunmuş metiyonin'in embriyo kalitesine olan etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada 14 adet Holştayn ırkı inek rasgele kontrol ve deneme grubu olarak 2'ye ayrılmıştır. Donör olarak kullanılan ineklerin benzer canlı ağırlıkları (500-550 kg), benzer laktasyon dönemi (1-2 laktasyon), benzer süt verimi (günlük 30-35 litre) gibi özellikleri vardır. Alıcı olarak seçilen 56 tane Holştayn inek kullanıldı (ortalama 550 kg canlı ağırlık ve 1. laktasyonda). İnekler aynı ortamda ve bulunduruldu. Yedirilen bazal rasyon mısır silajı, yonca kuru otu, saman ve konsantre yem karmasında oluşmuştur. Rasyon % 40 kaba ve %60 konsantre yemden olacak şekilde yapılmıştır. Konsantre yem karması % 20 ham protein ve 2650 kcal/kg ME içermektedir. Her bir hayvan için hesaplanan günlük yem miktarı hayvanlara iki öğünde (sabah 6<sup>30</sup> ve akşam üzeri 17<sup>30</sup> da) eşit miktarlarda verildi. Çalışmada deneme grubunda bulunan ineklere deneme süresince kontrol rasyonuna ilave olarak her hayvan için 15 gram/gün korunmuş metiyonin oral yolla verildi. Denemedeki hayvanlar 20 gün süre ile yukarıda içeriği belirtilen rasyon ile beslendi. Sonra "Süperovulasyon Protokolü" uygulamaları başlandı. Süperovulasyon Protokolü uygulamaları esnasında besleme programında değişiklik yapılmadı. FSH hormonu enjeksiyonu yapılmadan ve uterusu yıkamaya başlamadan önce korpus luteum (Cl) sayısı, yoğunluğu ve çapı ultrason yardımı ile belirlendi. Araştırmanın sonucunda, süperovulasyon gerçekleştirildikten sonra Cl sayısı bakımından gruplar arasında bir farklılığın olmadığı tespit edildi. Embriyolar uterus yıkaması yapılarak toplandı. Bulunan embriyolar kalite ve gelişim safhalarına göre sınıflandırıldı. Gruplar arasında bir farklılık görülmedi. Bulunan embriyolar taşıyıcı hayvanlara transfer edildi. Embriyo tranferinden sonra 50. gün de gebelik kontrolleri ultrason ile yapıldı. Gebelik oranının kontrol ve deneme grubu arasında herhangi bir farklılık göstermediği belirlendi. Sonuç olarak korunmuş metiyoninin toplam embriyo,

transfer edilebilen ve edilemeyen embriyo, gebelik ve fertilize olmamış ovum sayıları ve oranları arasında istatistiki bakımından önemli bulunmadı.

**Anahtar Kelimeler:** Besleme, Üreme, Genetik, Korunmuş Metiyonin, Embriyo Transferi.





# **SEARCHING THE EFFECT OF USING PROTECTED METHIONINE ON EMBRYO QUALITY WHILE FEEDING DONOR COWS**

**Kurtuluş GÖK**

**Erciyes University, Graduate School of Health Sciences**

**Department of Animal Nutrition and Nutritional Diseases**

**Doktorate Thesis, February 2016**

**Supervisor: Prof. Dr. Berrin KOCAOĞLU GÜÇLÜ**

## **ABSTRACT**

The objective of this study was to investigate the effect of ruminally protected methionine on embryo quality of donor cows. In this study a total of 14 Holstein cows were randomly allocated into two groups which are one control and one treatment group. Cows which are donor have similar properties that similar average weight (500-550 kg), similar lactation period (1-2 lactation), similar milk production (between 30-35 kg milk/day). A total of 56 Holstein cows were used as recipient animals (average 550 kg live weight, 1<sup>st</sup> lactation). The cows were kept in similar conditions of handling and feeding. Feed with a basal ration composed of corn silage, alfalfa hay, straw and a concentrate mix. Ratio of the ration is 40 %forages and 60% concentrate. Concantrate mix containing 20 % crude protein and 2650 kcal/kg metabolic energy. Daily feed which was calculated for each animal, was given them twice a day (6:30 a.m and 5:30 p.m). The duration of the study 15 grams/day protected methionine was given as an addition to a control ration to the cows in the treatment group orally. Control and treatment group are being fed through 20 days as it was mentioned before. Then, ‘Superovulation Protocol’ applications were started to used. During the application of Superovulation Protocol, it has not been made any changes on the feeding programme. Before to inject FSH and washing uterus; number of corpus luteum, density of corpus luteum and diameter of corpus luteum were determined by ultrasonography. As a result of the research, after the Superovulation, it was seen that there was no difference between the groups in terms of the corpus luteum numbers. Embryos were picked up by flushing the uterus. Founded embryos were classified according to their quality and development phase. There was no difference between the groups. The embryos which were found transferred to the recipient cows. After the embryo transfer, pregnancy control was performed by ultrasound controls in 50<sup>th</sup> day. Pregnancy rates between the control and treated group were not determined any difference. As a result, there was not found a significant differences between groups on the number of total embryo, number of

transferable embryo and not transferable embryo, pregnancy rate and number of unfertilized ovum.

**Keyword:** Feeding, Breeding, Genetics, Protected Methionine, Embryo Transferring



## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa no</u>
İÇ KAPAK.....	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI .....	ii
YÖNERGE VE UYGUNLUK SAYFASI.....	iii
KABUL VE ONAY SAYFASI.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ÖZET.....	vi
ABSTRACT.....	viii
İÇİNDEKİLER .....	x
TABLO LİSTESİ.....	xii
ŞEKİL GRAFİK VE RESİM LİSTESİ.....	xiii
KISALTMALAR.....	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Embriyo Transferi.....	4
2.1.1. Transfer Edilebilir Embriyo Sayısını Etkileyen Faktörler.....	6
2.2. Fertilite.....	10
2.2.1. Fertilite-İnfertilite.....	10
2.2.2. Fertilite ve Besleme.....	13
2.2.2.1. Enerji ve Fertilite.....	14
2.2.2.1.1. Negatif Enerji Dengesi ve Fertilite İlişkisi.....	14
2.2.2.2. Yağ.....	19
2.2.2.2.1. Yağ Asitleri .....	20
2.2.2.3. Mineral ve Vitaminler.....	22
2.2.2.3.1. Mineraller.....	22
2.2.2.3.2. Vitaminler.....	23
2.2.2.3.2.1. Vitamin A ve Beta Karoten.....	23
2.2.2.3.2.2. Vitamin E.....	24
2.2.2.3.2.3. Vitamin D.....	25
2.2.2.3.2.4. B Grubu Vitaminler .....	25
2.2.2.3.2.5. Vitamin C .....	26

2.2.2.4. Protein.....	26
2.2.2.5. Metiyonin.....	34
3. TEZ ÇALIŞMASININ YÖNTEMİ.....	40
3.1. Hayvanların Seçimi.....	40
3.2. Hayvanların Beslenmesi.....	41
3.3. Yemlerin Analizi.....	42
3.4. Denemenin Yapılışı.....	42
3.4.1. Süperovulasyon Protokolü .....	42
3.5. Embriyoların Kalite ve Gelişim Safhalarına Göre Sınıflandırılması ..	44
3.5.1. Embriyo Gelişim Safhaları.....	44
3.5.2. Embriyo Değerlendirme.....	47
3.6. Taşıyıcı Hayvanlara Embriyo Transferi.....	49
3.7. İstatistikî Analiz .....	54
4. BULGULAR.....	55
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	63
6. KAYNAKLAR.....	69
ÖZGEÇMİŞ.....	92

## TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa no</u>
<b>Tablo 2.1:</b> Beslenme şeklinin süperovulasyon cevabına etkisi .....	9
<b>Tablo 2.2:</b> Düşük enerji ve yüksek enerji ile beslenmenin süperovulasyondan sonra embriyo sayısı ve kalitesine etkisi.....	9
<b>Tablo 2.3:</b> İşletmede istenen önemli dölverimi parametreleri .....	11
<b>Tablo 2.4:</b> Üremede etkili olan metabolik ve hormonal faktörlerdeki değişimler ve sonuçları .....	18
<b>Tablo 2.5:</b> Orta ve yüksek HP ile beslenen laktasyondaki ineklerin gebe kalma oranları (GB %) ve plazma üre azotu (PUN) konsantrasyonları (mg/dl).....	29
<b>Tablo 2.6:</b> Süt ineklerinde yüksek HP ve doğum sonrası ovaryum aktivitesi arasındaki ilişki.....	33
<b>Tablo 2.7:</b> Rasyon ham proteini-plazma progesterone düzeyi ilişkisi.....	34
<b>Tablo 2.8:</b> Aminoasit içerikleri (toplam esansiyel aminoasitlerin %'si olarak).....	35
<b>Tablo 3.1:</b> Denemede hayvanlara verilen günlük yem miktarları.....	41
<b>Tablo 3.2:</b> Deneme grubunda kullanılan korunmuş metiyoninin bileşimi .....	42
<b>Tablo 3.3:</b> Fertilize olmuş ovumun normal gelişme safhaları.....	45
<b>Tablo 4.1:</b> Deneme grubunda kullanılan yemlerin BM bileşimleri.....	55
<b>Tablo 4.2:</b> Donör ineklerde korunmuş metiyoninin folikül sayısı ve büyüklüğü, Cl sayısı ve büyüklüğü, toplam embriyo, transfer edilebilir embriyo, transfer edilemeyen embriyo sayısı, UFO ve gebelik oranına etkisi .....	59
<b>Tablo 4.3:</b> Donör hayvanlara metiyonin verilmesinin Cl sayısı, embriyo kazanma oranı, transfer edilebilir ve transferedilemeyen embriyo oranı, UFO oranı ve gebelik oranına etkisi .....	60
<b>Tablo 4.4:</b> Donör hayvanlara metiyonin verilmesinin elde edilen toplam embriyo sayısı ve oranına etkisi .....	60
<b>Tablo 4.5:</b> Donör hayvanlara metiyonin verilmesinin transfer edilebilen ve edilemeyen embriyo sayısı ve oranına etkisi .....	61
<b>Tablo 4.6:</b> Donör hayvanlara metiyonin verilmesinin UFO oranına etkisi .....	61
<b>Tablo 4.7:</b> Donör hayvanlara metiyonin verilmesinin gebelik sayısı ve oranına etkisi .....	62

## ŞEKİL, GRAFİK VE RESİM LİSTESİ

	<b><u>Sayfa no</u></b>
<b>Şekil 2.1:</b> Süperovulasyon ve embriyo transferi.....	6
<b>Şekil 2.2:</b> Holstein süt sığırlarında gebelik oranları ve süt verimi arasındaki zıt ilişki.....	12
<b>Şekil 2.3:</b> Erken ve orta laktasyondaki yüksek verimli ineklerin NEI, HP ve KM ihtiyaçları .....	13
<b>Şekil 2.4:</b> NED'in fertiliteye etki mekanizması .....	16
<b>Şekil 2.5:</b> Ruminantlarda protein metabolizması.....	28
<b>Şekil 3.1:</b> Morula safhası .....	45
<b>Şekil 3.2:</b> Kompakt morula safhası.....	45
<b>Şekil 3.3:</b> Erken blastosist safhası.....	46
<b>Şekil 3.4:</b> Blastosist safhası.....	46
<b>Şekil 3.5:</b> Genişlemiş (expanded) blastosist safhası.....	47
<b>Şekil 3.6:</b> Zona serbest (hatched) blastosist safhası.....	47
<b>Şekil 3.7:</b> Mükemmel (A) sınıfı embriyolar.....	48
<b>Şekil 3.8:</b> İyi (B) sınıfı embriyolar.....	48
<b>Şekil 3.9:</b> Vasat (C) sınıfı embriyolar.....	48
<b>Şekil 3.10:</b> Zayıf (D) sınıfı embriyolar.....	49
<b>Şekil 3.11:</b> Fertilize olmamış ovum (UFO) .....	49
<b>Şekil 3.12:</b> Donör hayvanlardan biri .....	50
<b>Şekil 3.13:</b> Donör hayvanlardan biri .....	51
<b>Şekil 3.14:</b> Hayvanlara uterus yıkama uygulanması .....	51
<b>Şekil 3.15:</b> Embriyoların filtreler (EMCON) ile süzülmesi.....	52
<b>Şekil 3.16:</b> Isıtılmalı stereo mikroskoplar ile embriyoların taranması.....	53
<b>Şekil 3.17:</b> Embriyoların kalite ve gelişim safhalarına göre sınıflandırılması .....	54
<b>Şekil 4.1:</b> Superovulasyon sonrası metiyonin grubu ovumun ultrason görüntüsü.....	56
<b>Şekil 4.2:</b> Superovulasyon sonrası metiyonin grubu ovumun ultrason görüntüsü.....	56
<b>Şekil 4.3:</b> Superovulasyon sonrası kontrol grubu ovumun ultrason görüntüsü.....	57
<b>Şekil 4.4:</b> Superovulasyon sonrası kontrol grubu ovumun ultrason görüntüsü.....	57

## KISALTMALAR

MOET	: Çoklu Yumurtlatma ve Embriyo Transferi
NPN	: Non Protein Nitrojen
Verici	: Donör (Yüksek fenotipik ve genotibe sahip olan hayvan)
ME	: Metabolik Enerji
HP	: Ham Protein
HMG	: İnsan Menopozal Gonadotropini
FSH	: Foliküler Uyarıcı Hormon
PMSG	: Gebe Kısırak Serum Gonadotropini
TMR	: Toplam Karma Rasyon
Cl	: Korpus Luteum
KM	: Kuru Madde
NEI	: Net Enerji Laktasyon
NED	: Negatif Enerji Dengesi
NEFA	: Esterleşmemiş Yağ Asitleri
VKS	: Vücut Kondisyon Skoru
IGF-1	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü 1
GH	: Büyüme Hormonu
TMR	: Toplam Karışım Rasyonu
INF-Tau	: Antiluteolitik Faktörler, İnterferon Tau,
Ca	: Kalsiyum
P	: Fosfor
Se	: Selenyum
Cu	: Bakır
Zn	: Çinko
Mn	: Manganez
Co	: Kobalt
RDP	: Rumende Yıkılabilir Protein
RUP	: Rumende Yıkımlanamayan Protein
MUN	: Süt Üre-N
EPA	: Eicosapentaenoic Asit
DHA	: Docosahexaenoic Asit

PUN	: Plazma Üre Azotu
HY	: Ham Yağ
HS	: Ham Selüloz
LH	: Luteinizan Hormon
CLA	: Konjuge Linoleik Asit
OPU	: Ovum Pickup
NPN	: Azotlu Bileşikler
NDF	: Nötr Deterjan Çözeltisinde Çözünmeyen Lifli Bileşikler
ADF	: Asit Deterjan Çözeltisinde Çözünmeyen Lifli Bileşikler
UFO	: Fertilize Olmamış Ovum
DNMT	: DNA Metilasyonu



## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Üreme performansında yaşanan sorunlar Dünya’da ve ülkemizde süt sığırcılığının en önemli problemlerindendir. Her yıl bir süt sığırı işletmesinde düşük fertilitte, meme hastalıkları, yaşlılık ve ölüm gibi nedenlerle mevcut sürünün en az %25’i sürüden çıkartılarak yerlerine yeni düvelerin konması gerekmektedir (1). Özellikle son 20 yıl da süt sığırcılığında genetik ilerleme sonucu süt verimindeki artışa rağmen; fertilitede yaşanan kayıplardan dolayı sektörde konu ile ilgili araştırmaların sayısı artmıştır. Üreme performansını iyileştirmeye yönelik çalışmalar fertilitte-beslenme arasında yakın bir ilişki olduğunu ortaya koymaktadır (2). Öte yandan kıymetli damızlıklardan daha fazla yavru elde edebilmek, eldeki sürünün ıslahında ve safkan damızlıklara dönüştürülmesinde yararlanmak için hayvan ıslahı çalışmalarına hız kazandırmak gerekmektedir (3). Bundan dolayı embriyoların transferi ile doğrudan damızlık olarak kullanılabilen yavru elde edebilmek için süperovulasyon ve embriyo transfer uygulamaları birlikte yapılmaktadır. Bu işlemlerin maliyetinin yüksek olması nedeniyle, yeni yöntemler denenmekte veya var olan teknikler geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bu yöntemlerden biri de Çoklu Yumurtlatma ve Embriyo Transferi (MOET) tekniğidir. MOET’te başarı süperovulasyon uygulanan ve donör olarak adlandırılan genetik kapasitesi yüksek hayvanların bakım ve beslenmelerinin yeterli seviyede olmasına bağlıdır (4). Ancak donör ineklerden elde edilecek embriyo sayısı ve kalitesinin artırılmasında verilen besin madde miktarları veya etkinliklerinin belirlenmesi yönünde yeterli çalışma bulunmamaktadır (5).

Proteinler dokuların büyümesi, gelişmesi ve onarımı için gerekli olan yapısal

bileşenlerdir. Organizmada gerekli birçok metabolitin (enzimler, albumin, lipoprotein, antikorlar, hormonlar vb.), yapısında protein bulunmaktadır. Proteinler hayvanların yaşamsal faaliyetlerinin devamı için gerekli olduğu kadar süt verimi için de gereklidir.

Sığırlarda protein ve protein tabiatında olmayan azot kaynakları (Non Protein Nitrojen: NPN) rumende amonyağa kadar parçalanır. Bunlardan bir kısmı rumende mikrobiyal proteine dönüşürken bir kısmı da rumenden amonyak biçiminde emilir. Kaliteli protein kaynaklarının rumende mikrobiyal proteinlere dönüşümleri sırasında %55'lere varan kayıplar oluşabilmektedir. Kaliteli protein kaynaklarının rumende hızla parçalanmasını önlemek ve yemdeki proteinlerden daha fazla yararlanmak için bazı yöntemler kullanılarak hayvanın by-pass protein ihtiyacının karşılanması sağlanmaktadır (6). Süt verimi yüksek olan hayvanlar mikrobiyal proteinin yanında bypass proteine de ihtiyaç duyarlar. Rasyondaki değerli proteinlerin rumende mikroorganizmalar tarafından hızlı bir şekilde parçalanmasıyla ve idrarla üre atılımı şeklinde protein kayıplarına neden olmaktadır. Rasyondaki kaliteli proteinlerin korunmasındaki temel sebeplerinden birisi, bu kayıpları azaltmak ve rumende aşırı amonyak oluşumunu önlemektir (6). Yüksek süt verim kapasitesine sahip hayvanlarda ruminal sentezle karşılanamayan metiyonin ve lizin gibi aminoasitleri ruminal parçalamadan korunarak by-pass protein olarak barsaklara geçirilmesi büyük önem taşımaktadır (7).

Korunmuş protein, yemdeki proteinin rumende parçalanmayan kısmıdır. Bu nedenle yüksek süt verimine sahip ineklerin rasyon proteinlerinin bir bölümü içerisinde by-pass protein oranı fazla olan balık unu, et unu, tüy unu, kan unu gibi hayvansal kökenli yemler ile soya fasulyesi küspesi ve mısır gluteni gibi bitkisel kaynaklardan karşılanmaktadır (8). Burada dikkat edilmesi gerekli durum ise parçalanabilen ve parçalanmayan (korunmuş) protein arasındaki oranı ihtiyacı karşılayacak şekilde ayarlamaktır. Çünkü rasyonda by-pass özelliği yüksek proteinin fazla olması durumunda rumende azot miktarı düşer. Bu da rumen mikroorganizmalarının azot bakımından yetersiz beslenmelerine yol açtığı gibi bağırsaklarda da toplam protein miktarını azaltır. Yeterince protein alınamazsa hayvanlarda süt veriminin düşmesi söz konusudur (9).

Yüksek süt veren hayvanlarda protein kalitesi vücudun bunları sentez edip edememesine göre belirlenmiştir. Proteinler 20 aminoasitten oluşur. Bunlardan oniki aminoasiti vucut sentezleyebilirken sekizi vucutta sentez edilemez (esansiyel

aminoasit) ve dışarıdan alınması gerekir (10). Metiyonin esansiyel aminoasitlerden biridir. Metiyonin kükürlü bir aminoasittir. Ayrıca birçok biyokimyasal reaksiyona katılarak protein yapısındaki çeşitli ara ürünlerin üretilmesinde rol alır (8). Diğer taraftan hepatotoksik maddelerin uzaklaştırılmasında antioksidan aktiviteye sahiptir. Yapısında bulunan kükürt sayesinde şelat yapabilme özelliğinden dolayı serbest radikallerin karaciğerden uzaklaştırılmasını sağlayarak karaciğerin korunmasına da katkı sağlamaktadır (11).

Metiyoninin süt ineklerinde, süt protein düzeyini artırdığı, sütteki üre nitrojeni seviyesini düşürdüğü, üreme performansını, ovarian aktivitesini ve foliküler dinamiğini iyileştirdiği bildirilmektedir (8).

Bu çalışmada korunmuş metiyoninin, donörlerde süperovulasyon protokolü ile elde edilen embriyoların kaliteleri üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Embriyo Transferi

Dünyada ilk embriyo transfer uygulamaları Angora tavşanlarında Walter Heape tarafından 1890 yılında yapılmıştır. Embriyo transferi sonucunda elde edilen ilk buzağı 1951 yılında doğmuştur. Teknolojinin ilerlemesiyle beraber cerrahi yöntemle yapılan embriyo transferleri yerini cerrahi olmayan yöntemlere bıraktığı gibi embriyoların dondurulmasındaki ilerlemelerle pek çok ülkede uygulama imkânı bulmuştur. Ülkemizde ilk embriyo transfer uygulaması 1985 yılında İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesinden Prof. Dr.İrfan Kamuran İLERİ tarafından yapılmıştır (12).

Embriyo transferinde normal koşullarda bir yavru veren yüksek genotipik ve fenotipik kapasiteye sahip dişi hayvanlardan (donör) daha çok yavru elde etmek hedeflenir. Embriyo transferi daha çok inek, koyun ve keçi gibi hayvanlarda uygulama alanı bulmaktadır (5). Bu uygulama üstün verimli dişi hayvanlardan daha çok yavru alabilmek amacıyla yapılmaktadır. Verici (donör) hayvanlardan yüksek kaliteli oosit ve embriyo elde edilmesi hedeflenmektedir. Embriyo transferinde başarının, yapılan süperovulasyon sonunda elde edilen oosit ve embriyo kalitesine bağlı olduğu tespit edilmiştir (13).

Embriyo transferi ilk aşamasında hormonal uyarım sonucu ovaryumlarda çok sayıda folikül şekillenmesi, çoklu ovulasyon sağlanması ve gelişen oositlerin fertilasyon işlemini takiben meydana gelen embriyoların uterusdan alınarak (kültürden alınan embriyolar) taşıyıcı hayvanlara transfer edilmesini ihtiva eden biyoteknolojik işlemleri kapsamaktadır (14).

Dişi bir buzağı doğduğu zaman, ovaryumlarında 75.000 ile 300.000 arasında primordialfoliküle sahiptir (15). Her yıl bir yavru vermesi nedeniyle bir inekten damızlık hayatı boyunca maximum 7-8 yavru almak mümkündür. Ancak süperovulasyon sayesinde her uygulamada birden fazla embriyo (ortalama beş embriyo) toplanıp hayatı boyunca verdiği yavruyu bir yılda elde etmek mümkündür. Süperovulasyon, embriyo transferinin en önemli aşamalarından biridir. Bu aşamada donör olarak kullanılan ineklere ekzojen hormone (FSH, HCG) enjeksiyonu yapılarak ovaryumlarında çok sayıda folikül gelişiminin sağlanması ve ovulasyon oluşturulması amaçlanır (16, 17). Hayvanların süperovulasyona verecekleri cevap; beslemeye, ırka, yaşa, genel kondüsyona, hormon muamelesinin tipine ve çevresel koşullara bağlıdır (14). Bu nedenle embriyo transferindeki ilk aşama olan donör seçimi oldukça önemlidir.

Donör hayvanlar;

- Bir yada iki tohumlama sonrasında gebekalan,
- Her yıl düzenli ve normal doğum yapan,
- Normal ve düzenli östrus siklusları gösteren,
- Kistik ovaryum dejenerasyonu, endometritis, postpartum anöstrus sorunları bulunmayan,
- Enfeksiyöz Bovine Rhinotracheitis (IBR), Bovin Viral Diyaré (BVD), Brucellosis, Leptospirosis, Enfeksiyöz Bovine Leucosis (EBL), Blue Tongue (BT), Tuberculosis, Vibriosis, Trichomoniasis gibi hastalıklardan âri olan,
- Genetik üstünlüklere sahip olan,
- Verim kayıtları ve döl kontrolü (progeny test) sonuçları bulunan,
- Annenin süt verim kabiliyeti iyi olan,
- 2-3 doğum yapmış (bu ineklerden genç ve yaşlı ineklere göre daha fazla transfer edilebilir embriyo elde edilebilir), hayvanlar arasından seçilmelidir (18, 19).

Süperovulasyon uygulanmayan bir ineğin östrusta tohumlanmasını takip eden 7. veya 8. günde uterus yıkaması yapılarak bir embriyo elde edilebilir (17). Fakat bu yöntem, yüksek maliyetinden dolayı pratikte uygulama şansına sahip değildir (20). Embriyo transferinin maliyetinin azalması ve yaygınlaştırılması, bir inekten bir seferde alınabilecek kaliteli embriyo sayısı ile çok yakın ilişkilidir (21). Süperovulasyon uygulamasının amacı, aynı zamanda yüksek gebelik oranı da sağlayacak şekilde maksimum sayıda transfer edilebilir kalitede embriyo üretmektir (22). Normal bir

östrüs sırasında sadece bir embriyo elde edilebilirken süperovulasyon tekniği kullanılarak bu sayı ortalama 10'e çıkarılabilmekte; bunun yaklaşık %50'sini transfer edilebilir embriyolar oluşturmaktadır (23) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1: Süperovulasyon ve embriyo transferi (24)

### 2.1.1. Transfer Edilebilir Embriyo Sayısını Etkileyen Faktörler

Transfer edilebilir embriyo sayısı kullanılan donöre, beslemeye, gonadotrop hormonlara, foliküler gelişim-dalgaya bağlı faktörlere ve diğer faktörlere bağlı olarak değişim göstermektedir (25, 26).

Aşağıda bu faktörler tek tek ele alınmıştır.

1. Hayvanlarda süperovulasyon amacıyla insan menopozal gonadotropini (HMG), foliküler uyarıcı hormon (FSH) ve gebe kısrak serum gonadotropini (PMSG) yaygın olarak tercih edilmektedir (27, 28,29).
2. Süperovulasyonda östrüs siklusunun 8–14. günleri arası gonadotropin uygulaması yanında ovaryumunda iyi gelişmiş bir korpus luteum (Cl) bulunmasının gerekliliği vurgulanmaktadır (30,31).
3. Donör olan hayvanın postpartum süreyi sorunsuz geçirmesi, vücut

kondüsyon skorunun (VKS) iyi olması ve ardı ardına iki östrüs siklusu boyunca takip edilmiş olması gereklidir (18, 32, 33).

4. Donör hayvanların VKS'nun yüksek ya da düşük olması hormona olan duyarlılığı düşürdüğü gibi reproduktif organların manipulasyonunu da güçleştirmektedirler(18).
5. Bazı araştırmacılar doğum sonrası süperovulasyona başlanacak en uygun zamanın 56 ile 115. günler arası olduğunu belirtmektedirler (28,34).
6. Süperovulasyon uygulamalarına verilen cevap ırklar arasında farklılıklar göstermektedir (35).
7. Genç ineklerin, yaşlı inek ve düvelere göre daha yüksek süperovulasyon cevabı daha iyidir (33).
8. Süperovulasyon uygulamaları sırasında kan progesteron seviyelerinin önemli olduğu ve bu sırada düşük progesteron seviyesine sahip ineklerde süperovulasyon cevabının diğerlerine göre daha yüksek olduğu, laktasyondaki ineklerin kurudaki ineklerden daha fazla sayıda transfer edilebilir embriyo verdikleri bildirilmiştir (22,29).

İneklerde reproduktif etkinliğin artırılmasında besleme faktörleri, üreme olayını doğrudan etkileyebildiğinden ve diğer faktörlerin etkilerini ayarlayabilme potansiyeline sahip olduğundan dolayı en önemli etkenlerdendir (2). Bu nedenle yeterli beslenme, hayvanların genetik potansiyellerine ulaşmalarını sağlayabildiği gibi fiziksel çevrenin negatif etkilerini azaltabilir ve yetersiz bakım tekniklerinin etkilerini minimize edebilir. Diğer yünden, yetersiz beslenme sadece hayvanın performansını ırk olarak sahip olduğu genetik potansiyelin altına düşürmekle kalmaz; aynı zamanda zararlı çevre etkilerinin daha da belirginleşmesine neden olur (2). Beslenme faktörleri, diğerlerine nazaran pozitif sonuçlar elde edebilmek için daha fazla kontrol gerektirir. Bu yüzden beslenme ve üreme arasındaki etkileşime ve çeşitli nedenlerden dolayı nicel olarak besin alımı ve niteliksel besin dengesizliği gibi konulara özel ilgi gösterilmelidir. Beslenmenin negatif etkileri azaltmak ve pozitif etkileri artırmak için gerekli işlemlerin doğru tespit edilememesi canlıların üreme yeteneklerini olumsuz etkilemektedir (36).

Donör hayvanlarda beslemenin etkilerini değerlendirmede en büyük engellerden biri verilerin çoğunluğunun *in vitro* sistem kullanılan çalışmalardan alınmış olmasıdır. *In vitro*

çalışmalarda; oosit ve embriyo üzerinde hücresel ve moleküler etkilerin mekaniksel olarak anlaşılması amaçlanmaktadır. Buna karşın, bu sonuçları yorumlarken *in vivo* etkilerin, *in vitro* sistemde uygulanamaması da göz ardı edilmemelidir (37, 38).

Donör hayvanların beslenmesinin oosit ve embriyo kalitesi ile embriyo transferi'nden sonraki gebeliği nasıl ve hangi mekanizmalarla etkilediği tam olarak belirlenememiştir (39). Beslemenin fertiliteye etkisi, karışık olmakla birlikte folikül ve oositin gerekli olgunluğa ulaşması ve embriyo kalitesini etkileyen bir dizi endokrin ve metabolik olaylar serisi ile ilişkilendirilmektedir (5). Besinlerin oosit ve embriyo üretimine etki mekanizmaları tam olarak açıklığa kavuşmamış olmakla birlikte, rasyon içeriğinin hayvanların fizyolojik durumuna göre ihtiyacını karşılamaya yönelik olarak optimize edilmesi gerektiği bilinmektedir. Rasyonların enerji, protein, vitamin ve mineral madde içerikleri üreme performansını doğrudan etkileyen faktörlerdir. Negatif ve pozitif enerji dengesi, yetersiz veya aşırı protein tüketimi, mineral veya vitamin yetersizliği gibi beslenme bozuklukları tüm çiftlik hayvanlarında üreme sorunlarına yol açmaktadır (40). Bunların yanında ruminantlarda üreme siklusunun sağlıklı seyri ve kızgınlık, fertilizasyon ve gebeliğin devamı için ekzojen besin maddeleri de büyük önem taşımaktadır (41).

Yaakub ve ark. (42), konsantre yem tipi ve miktarının süperovulasyona etkisini tespit etmek amacıyla bazal yem olarak ot silajının kullanıldığı bir çalışmada konsantre yem olarak arpanın veya mısır/turunç/pancar karışımının 3 kg yada ad libitum verilmesinin etkisini araştırmışlardır. Konsantre yem miktarının sınırlı tutulmasıyla ad libitum olarak verilmesine göre daha fazla sayıda transfer edilebilir embriyo elde edildiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmadan alınan bilgiler Tablo 2.1'de verilmiştir.



**Tablo 2.1.** Beslenme şeklinin süperovulasyon cevabına etkisi (42).

<b>Arpa</b>	3 kg	Ad libitum
Cl (adet)	15,,5	12,3
Toplam ovum/embriyo (adet)	9,,5	6,5
Transfer edilebilir embriyo (adet)	4,8	2,8
<b>Mısır/Turunç/Pancar</b>	3 kg	Ad libitum
Cl (adet)	14,4	13,4
Toplam ovum/embriyo (adet)	8,1	7,9
Transfer edilebilir embriyo (adet)	4,8	2,9

Mollo ve ark. (43) enerji ihtiyacının %70'i (düşük) ve %170'i (yüksek) düzeyinde beslenen hayvanlardan toplanan embriyo miktarında istatistikî bir farklılık bulunmadığını, ancak yüksek düzeyde enerji ile beslenen hayvanlarda kaliteli embriyo sayısında bir azalma olduğunu ifade etmişlerdir. Besleme düzeyi ile ilgili bu ve benzer çalışmalardan alınan bazı veriler Tablo 2. 2'de verilmiştir.

**Tablo 2. 2.** Düşük enerji ve yüksek enerji ile beslenmenin süperovulasyondan sonra embriyo sayısı ve kalitesine etkisi (5).

	Besleme düzeyi		Kaynak
	Düşük	Yüksek	
<b>İnek</b>			
Hayvan sayısı	14	14	(44)
Yaşayan embriyo miktarı	10,7	6,7	
<b>Düve</b>	38	38	(45)
Mükemmel ve iyi kalitedeki embriyo sayısı	2,7	1,,0	
Transfer edilebilir embriyo sayısı	4,8	2,8	
<b>Düve</b>	17	20	(43)
Yaşayan embriyo sayısı	5,7	3,8	

Bader ve ark. (45), rasyonda tam yağlı soya kullanılmasının transfer edilebilir embriyo miktarında bir azalmaya yol açtığını bildirmişlerdir.

Erken embriyo gelişiminde laktasyonun ve enerji dengesinin negatif etkileri oosit kalitesindeki değişikliklerle değerlendirilebilir. Çünkü hem süt hem de besi sığırlarında yüksek süt veriminin, fertilitate ve embriyo kalitesini düşürdüğü bildirilmiştir (46). Foliküler sıvıdaki östradiol konsantrasyonlarının yeniden oluşması için enerji dengesinin kurulması postpartum süresince oostlerin kalitesini etkilemektedir (47). Enerji dengesi ile birlikte meydana gelen hormonal değişimlerin (gonado hormonlar) donör ineklerdeki oosit ve embriyo kalitesini arttırdığı bildirilmektedir (48, 49, 50). Hayvanlara verilen bazı rasyon bileşenleri, oosit ve embriyonun yaşama kabiliyetini negatif yönde etkileyebildiği gibi bazı bileşenleri de pozitif yönde etkilemektedir (5). Gelişmekte olan ve zaman içerisinde uygulama alanı bularak yaygınlaşması kaçınılmaz olan embriyo transferinin en önemli aşaması süperovulasyondur. Süperovulasyon hakkındaki mevcut bilgiler elde edilecek embriyo sayı ve kalitesinin tüketilen besin maddelerinden etkilendiğini göstermektedir. Donör ineklerden elde edilecek embriyo sayısı ve kalitesinin artırılmasında makro ve mikro besin madde miktarlarının belirlenmesi ile ilgili yeterli bilgi bulunmamaktadır.

## **2.2. Fertilitate**

### **2.2.1. Fertilitate-İnfertilitate**

Üreme performansı veya fertilitate, genetik üstünlüğün aktarılması, süt ve buzağı elde edilmesi, tohumlama maliyeti üzerinde doğrudan ya da dolaylı olarak etkili olması nedeniyle süt sığırcılığı işletmelerinde karlılığı etkileyen en önemli faktörlerden biri olarak kabul edilmektedir (51).

Fertilitate, döl veriminin fizyolojik ve ekonomik sınırlar içinde devamlılığıdır. İnfertilitate ise döl veriminin aksaması, yani doğum ile yeni bir gebeliğin şekillenmesi arasındaki sürenin uzamasıdır. Bu durum zaman ve ekonomik yönlerden kayıp anlamına gelmektedir. Bir işletmede infertilitate parametrelerinin olması fertilitate ile ilgili sorunların olduğunu göstermektedir (52).

İnfertilitate parametreleri, aşağıda maddeler halinde sıralanmıştır.

- ❖ Doğumlar arasındaki sürenin 400 günü aşması,
- ❖ Doğum-gebelik arası sürenin 120 günden uzun sürmesi,
- ❖ İlk tohumlamada gebelik oranının % 50 den düşük olması,
- ❖ Buzağı başına gereken tohumlama sayısının ikiden fazla olması,
- ❖ Bir işletmedeki hayvanların en az üçte birine buzağı başına üçten fazla tohumlama uygulanması (53).

İşletmede fertilité ile ilgili en önemli parametreler Tablo 2. 3’de sunulmuştur.

**Tablo 2.3.** İşletmede istenen önemli dölverimi parametreleri (54).

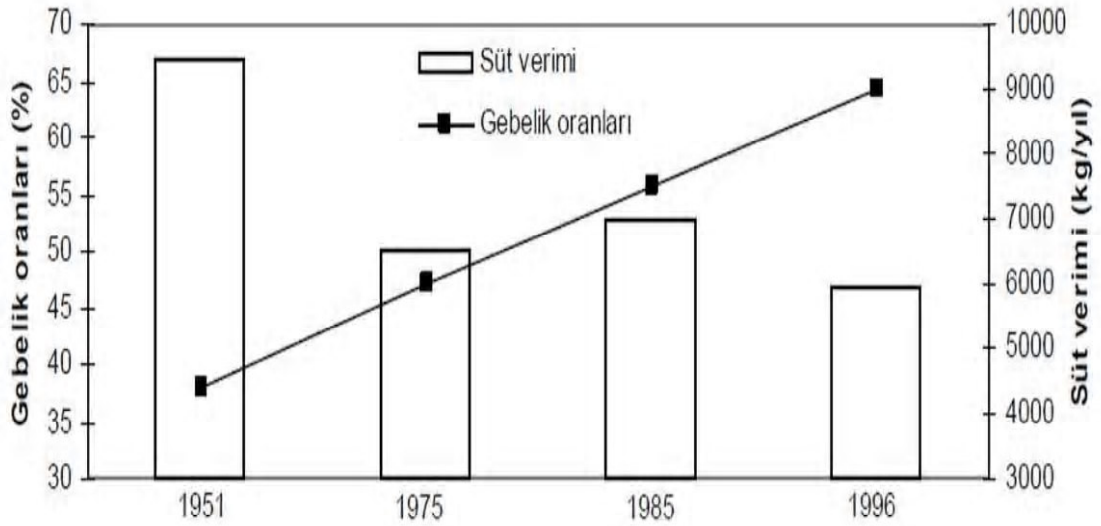
Parametreler	Hedef	Tolerans
İlk çiftleştirme yaşı	13-15 ay	14-20 ay
İlk buzağılama yaşı	22-25 ay	23-30 ay
Gebelik süresi	282 gün	İrklara göre farklı
Laktasyon (sağım dönemi)	305 gün	300-320 gün
Kuru dönem	60 gün	42-75 gün
İki doğum aralığı	365 gün	<400 gün
Doğumdan sonra ilk kızgınlık	<45 gün	< 60 gün
Doğumdan sonra ilk tohumlama	45-60gün	< 60 gün
İlk tohumlamada gebelik oranı	% 60	> % 55
Gebelik başına tohumlama	1.65	< 2
Kızgınlıkların belirlenme oranı	% 80	% 70
Gebelik başına üçten fazla tohumlama düşen inek sayısı	<%16	
Doğum sonrası 60. güne kadar kızgınlık gösteren inek oranı	% 85	
Döl verimi düşüklüğü nedeniyle zorunlu kesim	<%5	% 10

Süt verimi arttıkça beslemenin üreme fonksiyonları üzerine negatif etkisi daha da artmaktadır. Bu da süt sığırı yetiştiriciliğinde karlılığın doğrudan etkilenmesi anlamına gelmektedir (55). Son zamanlarda süt verimi artışıyla beraber fertilité azalması, yüksek süt verimi yönünde yapılan seleksiyon çalışmalarının yan etkisi olarak değerlendirilmektedir (55). Son 40 yılda yüksek süt verimi yönünde yapılan

seleksiyonlar hem rasyon, hem de vücut rezervi kaynaklı besin maddelerinin öncelikle meme bezlerine ve süt verimine yönlendirilmesine neden olmuştur.

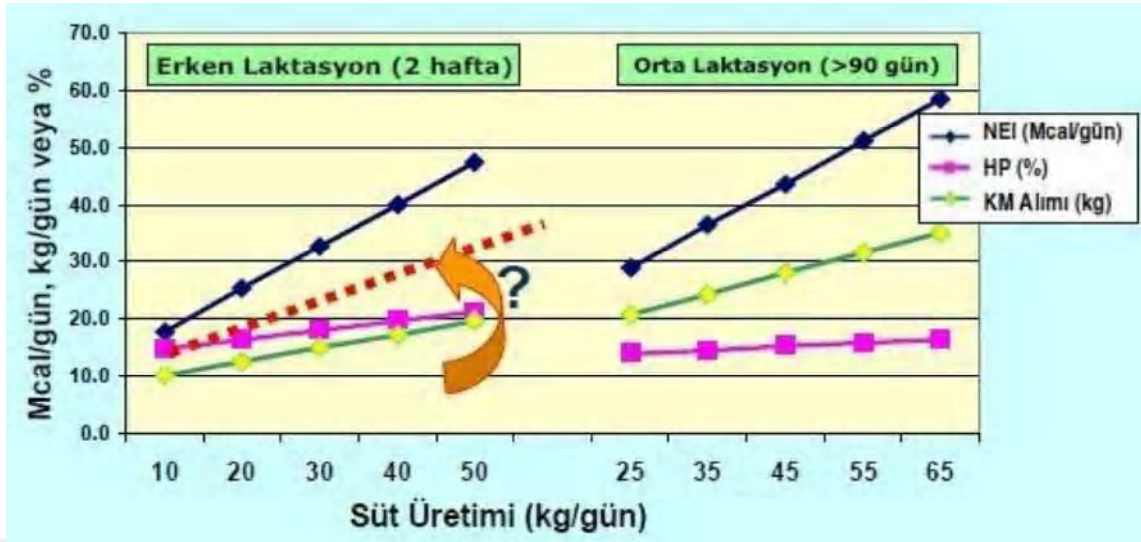
Önceliği süt üretimi olan modern süt işletmelerindeki hayvanlarda meydana gelen metabolik ve hormonal değişikliklerin hipotalamus-hipofiz-ovaryum eksenindeki dengeyi bozarak üreme ile ilgili olumsuzlukların ortaya çıkmasına neden olduğu bildirilmiştir (Şekil 2. 2) (56, 57).

Laktasyonun ilk 21 günündeki süt veriminin fertilité üzerindeki etkisi, laktasyon genelindeki süt veriminin etkisinden daha büyüktür (58). Artan süt üretimi dolayısıyla enerji ve besin ihtiyaçları burada önemli rol oynar. Süt verimi ne kadar yüksek olursa östrus görülmeyen dönem o kadar uzun olur (59). Son yıllarda yapılan çalışmalar, üreme performansındaki düşüşün yüksek süt veriminden çok, enerji dengesi ile daha sıkı bir ilişki içerisinde olduğunu göstermektedir (2).



Şekil 2. 2: Holstein süt sığırlarında gebelik oranları ve süt verimi arasındaki zıt ilişki (60)

Ruminantlarda üreme siklusunun düzenli olması, kızgınlık, fertilizasyon ve gebeliğin devamı için besin maddeleri büyük önem taşımaktadır (Şekil 2. 3) (41, 61).



Şekil 2. 3: Erken ve orta laktasyondaki yüksek verimli ineklerin NEI, HP ve KM ihtiyaçları (61)  
NEI:Net Enerji Laktasyon, KM; Kuru Madde, HP; Ham protein

### 2.2.2. Fertilite ve Besleme

Süt sığırlarında fertilite genetik ve çevresel faktörlerin etkisi altında şekillenir (62). Üreme ile ilgili özelliklerin kalıtım derecesi ( $<0,10$ ) düşük olduğu için üreme faaliyeti çoğunlukla çevre koşullarının, ağırlıklı olarak da yem ve beslemenin etkisi altındadır (2). Besin maddelerinin organizmadaki çeşitli fizyolojik olayları düzenlemeleri, enzimleri aktive etmeleri, hormonların yapılarına girmeleri bu maddelerin üreme fizyolojisinde, dolayısıyla bütün verimlerin temeli ve başlangıç noktası olan dölvürümünde vazgeçilmez rollerinin olduğunun kanıtıdır (63). Besleme, hem metabolik hem de endokrinolojik olayları etkileyerek üreme performansı üzerinde etkili olabilmekte; beslemeye bağlı yetersizlik ve dengesizlikler fertilite düşüklüğüne yol açmaktadır (49, 64). Süt ineklerinde beslenmeye bağlı yetersizlik, fazlalık veya dengesizliklerin genellikle düzensiz östrus, anöstrus ve gebelik başına düşen tohumlama sayısının artması gibi reproduktif sorunlara neden olduğu bildirilmiştir (65, 66).

Süt ineklerinde fertilite, hormonal ve metabolik olaylar serisi ile gerçekleşmektedir. Üreme döngüsünü kontrol eden hormonal metabolizmanın etkinliği ise yem tüketimi ve süt verimi gibi metabolik olaylarla da yakın ilişki içerisinde (49, 64, 67). Besleme, hem metabolik hem de endokrinolojik olayları etkileyerek üreme performansı üzerinde etkili olabilmektedir (36). Doğumla birlikte başlayan laktasyon sürecinin ilk sekiz haftası üreme açısından en kritik dönemdir (68). Bu dönemde bir

tarafından süt verim düzeyinin artması diğer taraftan ise üreme siklusunun yeniden başlatılabilmesi için gerekli olan yenilenme ve hazırlık aşamaları, rasyonun protein ve enerji düzeyleri ile doğrudan etkileşim içerisinde (66, 69).

Besin madde ihtiyacı, hayvanın türüne, verim düzeyine, fizyolojik durumuna, yaşa ve cinsiyete göre değişmekle beraber; uzun süreli yetersiz, fazla ve dengesiz besin madde tüketimi hayvan organizmasında pek çok fizyolojik işlevin bozulmasına neden olmaktadır (63). Besleme ile üreme arasında son derece karmaşık bir ilişki bulunmakla birlikte; rasyonun enerji, protein, vitamin ve mineral madde içeriği üreme performansını doğrudan etkileyen faktörlerdir. Bunların organizmaya alınma düzeyleri, tüketilen formları ve biyolojik yararlılıkları ile üreme performansı arasında yakın ilişki vardır (70). Öte yandan bazı besin maddelerinin ( $\beta$ -karoten, selenyum, iyot, çinko vb) üremeyi doğrudan etkilediğine dair kanıtlanmış bulgular olmasına karşın; bazı besin maddeleri (metiyonin gibi) için ise kesin deliller bulunmamaktadır (71).

### **2.2.2.1. Enerji ve Fertilite**

Hayvanın enerji tüketiminin, süt verimini, canlı ağırlığı ve buna bağlı olarak vücut kondüsyon skorunu, üreme işlevini etkileyen en önemli besinsel faktör olduğu düşünülmektedir (72, 73). Rasyonla yetersiz ya da ihtiyaçtan fazla enerji alımı dölvürimini olumsuz etkiler. Beslenmeye bağlı infertilite olgularının en sık rastlanılanı rasyonda enerji eksikliğine bağlı olarak ortaya çıkar (74). Enerji eksikliği düvelerde pubertayı geciktirirken; ineklerde inaktif ovaryumlara sebep olur. Diğer yandan; kurudaki ve laktasyonun sonundaki ineklerin aşırı enerji tüketmesi ise yağlı inek sendromu (fat-cow) ve güç doğumlara yol açarak, gelecek laktasyonda üreme performansını düşürür. Düvelerin yetersiz enerjili yemlerle beslenmesi cinsel olgunluğa geç ulaşması, östrus siklusu düzensizleşmesi veya durmasına neden olur (75).

#### **2.2.2.1.1. Negatif Enerji Dengesi ve Fertilite İlişkisi**

Laktasyonun I. döneminde (0-10. haftalar arası) enerji ve besin madde gereksinimi yönünden önemli değişiklikler yaşanır. Bu dönemde hayvanın tükettiği günlük yem, yüksek süt verimi nedeniyle besin madde ihtiyaçlarını özellikle enerji ihtiyacını tam olarak karşılayamaz, vücutta negatif enerji dengesi (NED) gelişir (76, 77). Fertilitenin azalmasının temel nedeni de erken laktasyondaki şiddetli NED'dir (78).

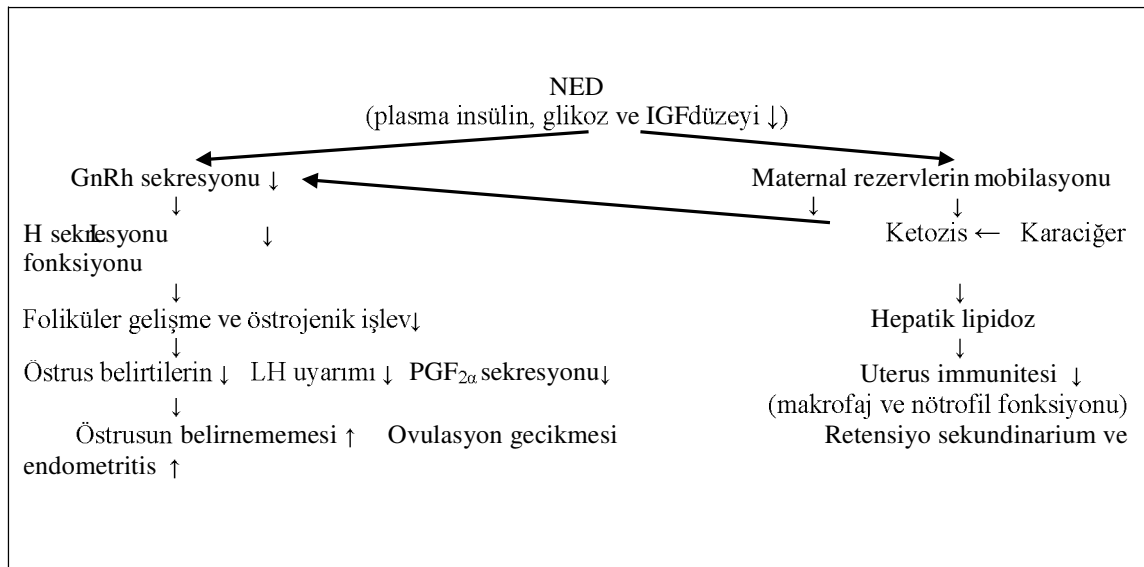
Laktasyondaki ineklerin süt verimi arttıkça, gebelik oranının düştüğü görülmüş düşük üreme performansının yüksek süt verimi ile ilişkili olmasının yanında, doğum sonrası ovaryum aktivite ölçümleri NED ile daha sıkı bir ilişki içerisinde olduğu gösterilmiştir (79). Sığırların doğum sonrasında gözlenen NED'nin şiddeti ve süresi üreme performansını olumsuz yönde etkilemektedir. NED'nin şiddeti, hayvanın süt verimi, sütün kompozisyonu ve hayvanın yem tüketim kapasitesiyle değişmektedir (78).

Yüksek verimli hayvanlarda besin madde kullanımı bakımından hipotalamus-hipofiz ve ovaryum ile meme bezleri bir yarış içindedir (2). Sağımın başlamasıyla birlikte besin madde kullanımı süt verimine yönlendirilmekte ve hipotalamus-hipofiz ovaryum ekseninde baskılanma görülmektedir (57). Beyin dokusunun, preoptik hipotalamus bölgesi, iştah, östrus davranışları ve beslenme duyarlılığının komuta merkezidir. Bu merkez somatotropin ve gonadotropinlerin salınımının kontrol edildiği bölgedir (2). Gonadotropik sistem, reproduksiyonun kontrolünü sağlarken, somatotropinler süt üretimi, lipolizis ve doku yapılarının devamlılığında rol alırlar. Gonadotropik ve somatotropik merkezler, preoptik alan içinde birbirlerine oldukça yakın konumda yer almaları ve nörolojik iletişimleri bulunmasına rağmen; ters orantılı olarak görev yaparlar. Örneğin, büyüme hormonu (GH) üretimi uyarıldığında GnRH salınımı baskılanmaktadır. Ayrıca, somatotropinin artması sonucu glikoz, insülin, insülin benzeri büyüme hormonu-I (IGF-I) salınımı düşer; yağ dokudan esterleşmemiş yağ asitlerinin (NEFA) salınımı artar (61). Laktasyon periyodunun bu dönemindeki hayvanların negatif enerji dengesine girmesi ile VKS düşmekte; üreme hormonlarının sentez ve salgılanmasında önemli değişiklikler oluşmaktadır (2).

Doğumla beraber hormonal ve fizyolojik değişimlerde oluşan insülin ve glikoz düzeyindeki düşüş, negatif enerji dengesi ile birlikte daha fazla artmaktadır (2). NED'e bağlı olarak süt ineklerinde vücut rezervlerinin yoğun kullanımı söz konusudur. Şiddetli NED'indeki ineklerde vücut yağları mobilize edilmekte, kanda NEFA, keton maddeleri ve büyüme hormonunun düzeyi artmakta, insülin ve leptin düzeyleri azalmaktadır (71, 80, 81). İnsülin seviyesinin normal olması, ovaryumun gonadotropinlere etkisini artırmakta, foliküllerin gelişimi için olumlu etki oluşturmaktadır. IGF-1 ise hücre mitogenezi, hormon üretimi ve embriyo gelişimi için önemlidir (82, 83). Kanda azalan IGF-I seviyesi, embriyo gelişiminin erken döneminde uterus ve ovidukt ortamını negatif yönde etkilemektedir (62, 84).

Negatif enerji dengesi ile ilişkili bir diğer hormon olan leptinin ise sirkulasyondaki konsantrasyonu VKS ile yakından ilişkilidir (58). Bu hormon geç gebelikte düşer ve NED düzelse bile leptin konsantrasyonu doğum sonrasında düşük seyir gösterebilir. Leptin hormonundaki bu değişikliğin ineklerde iştah azalmasına ve periferal dokularda insülin direncine neden olduğu açıklanmıştır (85). Diğer yandan kandaki NEFA, keton maddeleri (betahidroksi bütirik asit vb.), yağlı karaciğer sendromu, ketozis gibi metabolik hastalıkların göstergesidir (86).

Metabolik ve beslenme durumunun göstergesi olan insülin, IGF-1 ve leptin düzeylerinin düşmesi ile plasentadan üretilen hormonlarla (progesteron, östrojen) beraber hipotalamus (GnRH) ve hipofizden (FSH, LH) salınan hormonların düzeyleri de düşer (80, 87). Bu metabolik ve hormonal koşullar hipotalamusta GnRH üretimini azaltmakta, hipofizden salgılanan LH ve FSH miktarlarını düşürmekte ve yumurtalıkların FSH ve LH'ya duyarlılıklarını olumsuz etkilemektedir (88). NED özellikle LH salınım frekansını ve dominant folikülün ovulasyonuna neden olacak pik salınımını olumsuz etkilemektedir (Şekil 2. 4) (71, 89).



**Şekil 2.4:** NED'in fertiliteye etki mekanizması (90)

İnsülin nöronlardaki glikoz metabolizmasını etkileyerek hipotalamusta GnRH iletimini sağlar (91). Ancak, NED sürecinde glikoz yerine ketonların kullanılması



gonadotropinlerin aktivitesini negatif etkiler (92). Yani hipoglisemi ve hipoinsülinemi sonucu LH pulzasyon frekansı düşer, ovaryumların gonadotropinlere duyarlılığı azalır ve ovaryum aktivitesi gecikir (93, 94, 95).

Ovaryumlardaki foliküllerin gelişimi ve aktivite üzerine etkili olan IGF-I'nin plazma seviyesinde laktasyonun ilk iki haftasındaki süt verimi ve dominant folikülerin gözlenmesiyle aralarında pozitif ilişkiler tespit edilmiştir (48, 74, 89, 96). Erken laktasyon döneminde NED'nin iyileştirilmesi serum IGF-I yoğunluğunu artırmaktadır. Bu nedenle propilen glikol gibi glikoz ön maddelerinin kullanımı sonucunda enerji tüketiminin artırılması plazma IGF-I konsantrasyonunu artırmakta ve ovaryum aktivitesini daha kısa sürede düzenlemektedir (48). IGF-I seviyesindeki bu pozitif gelişme hayvanın diöstrus periyodunda progesteron üretimini artırmaktadır. Progesteron gebeliğin devamını sağlayan hormondur ve aynı zamanda uterus şartlarını düzenlemekte ve erken gebelik gelişimini teşvik etmektedir (96). Sığırlarda diöstrus periyodunda artan progesteron seviyesi ovaryumların gonadotropik hormonlara karşı cevabını etkilemektedir (96).

Mulligan ve ark. (78), şiddetli NED'ndeki ineklerde immune sistemin baskılandığını, retensiyo sekundinarum, metritis, gizli kızgınlık veya kızgınlığın görülmemesi, ovulasyonun olmaması, kistik ovaryum, erken embriyonik kayıplar gibi problemlerin arttığını bildirmişlerdir.

Villa-Godoy ve ark. (97), buzağılamadan sonra NED'ne maruz kalan ineklerde ilk üç östrus silklusu sırasında progesteron düzeyinin düşük kaldığını saptamışlardır. Sartori ve ark. (25), ineklerde luteal doku yoğunluğunun düvelere nazaran büyük olmasına rağmen progesteron düzeylerinin düvelere oranla düşük olduğunu bildirilmiştir. Bu durum NED'nin hipotalamus-hipofiz-yumurtalık eksenine etkileri ve süt veren ineklerde yüksek yem tüketiminin neden olduğu karaciğer steroid katabolizması artışını hatırlattığını kaydetmişlerdir. Wiltbank (98), süt verimi ve yem tüketimi yüksek olan ineklerde, karaciğerde östrojen ve progesteron gibi steroid hormonların katabolizmasının daha hızlı olduğunu, hormon yoğunluğunun kandaki düzeylerinin düştüğünü ve bu nedenle üreme performansının kötüleştiğini bildirmiştir (Tablo 2.4).

**Tablo 2.4.** Üremede etkili olan metabolik ve hormonal faktörlerdeki değişimler ve sonuçları (2)

Faktörler	Metabolik/Hormonal	Yumurtalık/Hormonal	Fonksiyonel sonuç	Çiftlik Performansı
NED	-GnRH ve LH sentezi ve boşaltımında ↓ -Glikoz ↓ -İnsulin ↓ -IGF-1 ↓ -Leptin ↓ -Büyüme hormonu ↑	Östrojen üretimi ↓ LH ↓ -Yumurtlamanın gecikmesi veya olmaması	-Sessiz kızgınlık -Yumurta kalitesinde ↓ -Döllenmede ↓ -Erken embriyoölümünde ↑ -Kızgınlık siklusunun kısalması -Siklusun başlamaması (anöstrus)	-Tohumlama sayısında ↑ -Gebelik oranı ↓ -Buzağılama aralığının uzaması
	VKS ↓ Metabolik hastalıklar -Hipokalsemi -Ketosis -Yağlı karaciğer vb.	Yukarıdaki değişimlere ek olarak; Kanda; -Üre ↑ -Betahidroksibutirat ↑ -NEFA'da ↑ -Trigliserid ↑	Karaciğer fonk. bozulma -Endometrium fonk. bozulma -İmmun sistemin baskılanması	-Hayvan refahının kötüleşmesi -Ekonomik kayıp
Yüksek yem tüketimi	-Progesteron ve östrojen yıkımında artma	Östrojen ↓	-Sessiz kızgınlık -Döllenmede ↓ -Erken embriyonik ölüm	
Yüksek karaciğer fonk.	-Asidoz	-Progesteron ↓	-Topallık	

Rasyonda enerji düzeyinin artması, ovulasyona olan cevabın azalmasına ve süperovulasyon sonrası daha az kullanılabilir embriyo elde edilmesine neden olmaktadır (2). Yüksek enerji tüketimi koyunlarda progesteron konsantrasyonunun azalmasına yol açarken; ineklerdeki etkisi kesin değildir.

Yaakub ve ark. (99) tarafından, düvelerde kaba yem tipi ile konsantre yem tüketiminin, folikül sayısı ile progesteron konsantrasyonu üzerine etkisi incelenmiştir. Araştırmacılar 42 düveyi üç gruba ayırarak, 1. gruptakileri silaj (serbest) + 6 kg konsantre yemle, 2. gruptakileri silajla (serbest), 3. gruptakileri de kuru otlarla (serbest) 40 gün beslemişlerdir. Araştırma sonunda sadece silajla beslenen grupta progesteron düzeyi 168 ng/ml, silaj + konsantre yemle beslenen grupta 169 ng/ml, sadece kuru otlarla beslenen grupta 190 ng/ml olarak tespit edilmiş; verilen yemin progesteron konsantrasyonu üzerine etkisi istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

### 2.2.2.2. Yağ

Yağlar, enerji kaynakları olarak görev yaparlar, hücrelerin fiziksel ve fonksiyonel yapısı için kritik bileşenlerdir. Embriyo kalitesi ve fertilité üzerindeki potansiyel sonuçları kesin olmamakla birlikte üreme üzerinde etkilerinin olduğu bildirilmiştir (100, 101, 102, 103).

Plazma kolesterolü memelilerde luteal progesteron sentezinin temel prekürsörüdür. Rasyonda yağ kullanılması plazma kolesterol ve dolayısıyla progesteron düzeyini artırmakta ve Cl'un yaşam süresini uzatmaktadır (104, 105). Yağlı rasyonla beslenen ineklerde Cl'dan üretilen progesteron düzeyinin değişmediği, ancak progesteron artışıında progesteron yıkımının azalmasının etkili olduğu öne sürülmektedir (106, 107). Süt ineklerinde erken embriyo ölümlerinin %25-55 arasında değiştii ve bunun temel nedeninin Cl fonksiyonunun yeterli olmaması olduğu bildirilmektedir. Ayrıca plazma progesteron düzeyinin tohumlama (çiftleştirme) öncesinde yüksek olması da fertilitéyi olumlu yönde etkilemektedir (101). Rasyonlarında yağ bulunan ineklerde folikül sayısı ve boyutunun arttığı, kızgınlık siklusunun erken başladığı tespit edilmiştir (108).

Rasyon yağının üreme performansına olumlu etkilerinin:

- NED'nin şiddetini azaltmasından,
- Plazma kolesterolü ve dolayısıyla steroid hormon ve özellikle progesterone sentezini artırmasından,
- Plazma insulin seviyesini artırarak folikül gelişimini uyarmasından,
- Araşidonik asit gibi PGF2 $\alpha$  sentezinde prekürsör rolü oynayan yağ asitlerinin sentezini baskılayarak Cl yıkılmasını önlemesinden kaynaklanabileceği bildirilmektedir (100).

Lammoglia ve ark. (109) yağlı rasyon alan ineklerde plazmada kolesterol, östrojen, progesteron ve insulin düzeyleri arttığı halde, trigliserit ve büyüme hormonunun değişmediğini saptamışlardır.

Diet yağlarla beslenen hayvanlarda foliküler dalgalanmanın düzenli olduğu, foliküllerin büyüdüğu, sayısının arttığı ve kaliteli oosit oluşturma eğiliminde olduğu bildirilmiştir (106). Folikül boyutunun yükselmesi kaliteli oositi gösterdiği gibi LH salınımının da arttığının işareti olarak kabul edilmektedir (101, 106). LH salınımının artması yağların hidrolizinden kaynaklanan gliserolün propiyonata dönüşmesi nedeniyle ortaya çıkan

glikojenik koşullar yanında, yağın glikoz için tasarruf sağlayıcı etkisiyle açıklanmaktadır (101, 110). Bu durum plazma glikoz ve insulin düzeyinin arttığını bildiren çalışmaların sonuçlarını açıklar niteliktedir.

Rasyonda yağ kullanımı genel olarak üreme performansını olumlu etkilemekle birlikte; her zaman hayvanların doğum sonrası enerji dengelerine katkıda bulunmayabilir (101). Genelde rasyonda yağ kullanılması, süt veriminde artışa neden olmakta, plazma NEFA ve betahidroksibutirat düzeyini yükseltmektedir (111). Ayrıca büyüme hormonunu artırmakta ve büyüme hormonu/insulin oranını yükseltmektedir (105). Bu hormonal koşullarda meme dokusu dışındaki dokuların insuline cevabı düşmekte ve besin maddeleri daha çok meme bezlerine yönlendirilmekte ve süt üretimi artmaktadır. Aynı zamanda büyüme hormonunun yağ dokudan mobilizasyonunu da teşvik etmektedir (112).

Sklan ve ark. (113) rasyon yağının süt verimi ve süt yağını artırmasının negatif enerji dengesini şiddetlendirdiğini tespit etmişlerdir. Bu nedenle son zamanlarda yağ ile ilgili çalışmalar uzun zincirli doymamış yağ asitlerine kaydırılmıştır. Bu konuda üzerinde en çok durulan uzun zincirli doymamış yağ asitleri omega-3, omega-6 yağ asitleri ile konjuge linoleik asittir (CLA).

#### **2.2.2.2.1. Yağ Asitleri**

Yağ asitleri ile üreme fonksiyonları arasında direkt bir ilişki bulunmaktadır. Bu nedenle üreme fonksiyonlarının düzenlenmesinde yağ asitlerinin mutlaka süt sığırı rasyonlarına eklenmesi gerekmektedir (101).

Prostaglandinler folikül gelişiminde, ovulasyonda, doğumda ve doğumdan hemen sonra kızgınlık döngüsünün tekrar başlamasında önemli rol oynarlar. Prostaglandinler, gebe olmayan hayvanlarda uterusun, gebe ineklerde ise hem uterusun hem de plasentadan salgılanmaktadır (114). Araşidonik asit, prostaglandinlerin ön maddesidir. Ayrıca, linoleik asit de, araşidonik asite dönüşerek prostaglandinlerin sentezinde önemli rol oynar (2). Linolenik asitçe zengin rasyonlar, Cl'daki luteal hücreleri etkileyerek progesteron sentezini teşvik etmektedir (2). Cl'un var olduğu dönemde araşidonik asit ve linoleik asitçe zengin rasyonlarla besleme ise PGF<sub>2α</sub> üretimini teşvik ederek Cl'un yıkımına neden olmaktadır (115). Progesteron ise Cl'daki luteal hücreler tarafından sentezlenmekte; embriyonun implantasyonu için uterusun hazırlanması ve gebeliğin

devamlılığının sağlanmasında rol almaktadır. Progesteronun temel yapı taşı diğer seks hormonları gibi kolesteroldür. Linolenik asit de kolesterolün ön maddesi olmasından dolayı progesteron sentezinde rol oynamaktadır. Rasyon yağının yağ asiti profili progesteron sentezini etkileyebilmektedir. Linolenik asit ilave edilmiş rasyonlarla beslenen hayvanlarda kan plazmasında progesteron konsantrasyonlarında artışlar görülmüştür. Bu artışa bağlı olarak foliküler ve luteal hücreler uyarılmış ve progesteron sentezi artmıştır. Bu etki sadece progesteronun plazmadaki konsantrasyonunda değil, folikül içi sıvıdaki konsantrasyonunda da görülmüştür (116).

Plazma progesteron ve prostaglandin konsantrasyonları arasında negatif bir ilişki vardır. Örneğin, gebelik boyunca progesteron konsantrasyonu artarken prostaglandin konsantrasyonu azalır. Dolayısıyla rasyonda kullanılacak yağ kaynaklarının yağ asiti profili iyi bilinmelidir. Eicosapentaenoic Asit (EPA) ve Docosahexaenoic Asit (DHA)'ın rasyonla alımı arttığı zaman araşidonik asidin PGF2 $\alpha$ 'ya dönüşümü azalmaktadır. Bununla birlikte linolenik asitçe zengin rasyonlarla beslenen hayvanlarda PGF2 $\alpha$ 'nın sentezinin azaldığı tespit edilmiştir (117). Ayrıca rasyondaki linoleik asit/linolenik asit oranı da, sütücü ineklerde üreme fonksiyonları üzerine önemli etkiye sahip olup; bu oranın düşük olması prostaglandin sentezini ve prostaglandin aktivitesini azaltmaktadır. Prostaglandin sentezi ve aktivitesinin azalmasının, prostaglandinin yetersizlik belirtilerinin ortaya çıkmasına; yani folikül gelişimi ve ovulasyonda olumsuzluklar görülmesine ve iki doğum aralığının uzamasına neden olduğu bildirilmiştir (118).

Cerri ve ark. (119), yağ asiti karışımıyla zenginleştirilen rasyonla beslenen laktasyondaki ineklerde, üreme oranında, yüksek kaliteli embriyo sayısında ve suni tohumlama zamanlamasını takip eden hücre sayısında bir artış gözlemlediklerini bildirmişlerdir. Oosit olgunlaşmasının, fertilizasyon ve embriyo gelişiminin in vivo olarak gerçekleştiğini; doymamış yağ asitlerinin uterus çevresinde yararlı etkilerinin olduğunu ifade etmişlerdir.

Fouladi-Nashta ve ark. (120), yüksek miktarda (800 g/gün) hurma yağı kalsiyum (Ca) tuzu verilen süt ineklerinde, düşük miktarda (200 g/gün) hurma yağı kalsiyum (Ca) tuzu verilenlere göre ovum pickup (OPU) yöntemiyle alınan oositlerde in vitro olarak üretilen blastosistlerin sayısının arttırdığını bildirmişlerdir.

Bilby ve ark. (103), sağılan süt ineklerinin balık yağı ile zenginleştirilmiş kalsiyum tuzu

ile beslenmesi durumunda gebe sığırların gen ekspresyonunu taklit ettiklerini, siklik (döngü) ineklerin endometriumundaki gen ekspresyonunun değiştiğini ve balık yağının endometrium yağ asiti kompozisyonunu değiştirerek etkili olduğunu (örneğin; artırılmış EPA ve DHA ve azaltılmış araşidonik asit) tespit etmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca rasyona yağ eklenmesi yoluyla PGF<sub>2</sub> sekresyonunun düştüğünü, prostaglandin üretimini modüle ederek folikülleri değiştirmenin mümkün olabileceğini de bildirmişlerdir. Benzer şekilde Petit ve Twagiramungu (121), daha büyük Cl meydana getirerek, progesteron sentezini stimüle etmek ve böylelikle gebelik oranlarını iyileştirebilmek için ovulasyon sonrası dönemde hayvanlara linolenik asitçe zengin rasyonlar verilmesi gerektiğini bildirmişlerdir.

### **2.2.2.3. Mineraller ve Vitaminler**

#### **2.2.2.3.1. Mineraller**

Organizmada vitamin sentezi, hormon üretimi, enzim aktivitesi, hücre ozmotik basıncın düzenlenmesi, kollagen oluşumu, doku sentezi, O<sub>2</sub> taşınımı, enerji üretimi ve büyüme, dölerme ve sağlık gibi pek çok önemli fizyolojik işleyiş için mutlak gerekli olan iz minerallerden selenyum, çinko, bakır ve manganez fertilité üzerine de oldukça etkilidir.

Selenyum (Se), glutatyon peroksidaz'ın bileşenlerinden biridir. Hücre membranları ve düzenleyicileri üzerinde koruyucu etkisi vardır. Selenyum eksikliği, sığırlarda retensiyon sekundinarum oluşumu, zayıf uterus involusyonu, metritis ve ovaryum kistleri gibi üremeye ilgili bazı reproduktif bozukluklar ile ilişkilendirilmiştir (122). Selenyum yetersizliğinin ruminantlarda üreme fonksiyonları üzerine etkisinin mekanizması tam olarak açıklanamamıştır. Selenyum, immun fonksiyonlar üzerine olan etkisiyle postpartum ovaryum fonksiyonları ve uterus involusyonunu etkileyebilir (122). Aynı zamanda tiroid hormon metabolizması ya da prostaglandinlerin sentezi üzerine olan etkileri de dikkate alınmalıdır (122).

İyot eksikliği tiroid bezi ile ilişkili olarak reproduksiyonu etkilemektedir (123, 124). Bunun yanında kobalt ve manganezinde üreme performansına indirek etkileri bulunmaktadır (123).

Çinko, bakır veya manganez eksikliğinde de sığırların üreme performansı bozulabilir. Gecikmiş veya baskılanmış östrus, gebeliğin azalması, kısırlık ve embriyo ölümleri sığırlarda rastlanan bakır eksikliği semptomlarıdır (125).

Johns ve ark (126), organik mineral (Fe, Mn, Cu, Zn, K, Mg) tüketen düvelerde bazı dokulardaki doğum sonrası iyileşmeyen patolojik oluşumların %10-58 gibi önemli düzeylerde azaldığını, ayrıca istatistiki açıdan önemsiz olsa da yumurtalık aktivitesinin daha yüksek olduğunu ve embriyonik ölümlerin azaldığını bildirmişlerdir.

Britt (127). yaptığı denemede superovülasyona tabii tutulmuş ineklerin rasyonlarına organik iz mineral katkısının hayvan başına transfer edilebilen embriyo sayısında bir artış sağladığını, birinci kalitede toplanan embriyo miktarında artış bulunduğunu bildirmiştir.

#### **2.2.2.3.2. Vitaminler**

Vitaminler genel olarak organizmada çok az miktarları ile fizyolojik fonksiyonlara sahip, gerek dışarıdan alınan gerekse vücutta sentezlenebilen, büyüme, sağlık, üreme ve verim için gerekli olan organik besin maddeleridir (128). Modern süt işletmelerinde vitamin yetersizliklerinin fertilité sorunlarının ortaya çıkmasında rol oynadığı veya predispozisyona neden olduğu bildirilmektedir (129). Vitaminler enerji metabolizmasında yer alan enzimlerin koenzimi (suda eriyebilen vitaminler) ve yapısal unsurların bir düzenleyicisi olarak (yağda eriyebilen vitaminler) beslenme programının önemli bileşenleridir. Özellikle yağda eriyebilen vitaminlerin kritik bir süreç olan geçiş döneminde (doğum öncesi ve sonrası 2-3. haftalar arası) dölverimi üzerine etkili olduğu düşünülmektedir(129).

##### **2.2.2.3.2.1. Vitamin A ve Beta Karoten**

Vitamin A kemik-kas büyümesi, reproduksiyon ve epitel dokunun sağlığının devamında önemli rolleri olan bir vitamindir (130, 131). Vitamin A'nın üreme performansını da etkilediği uzun yıllardan beri bilinmektedir. Vitamin A en yüksek oranda karaciğerde depo edilmekte ve yetersizliği durumunda mobilize edilmektedir. Süt sığırlarında, vitamin A eksikliği zayıf ve kör yavrular doğmasına, metritis ve sonun atılamaması riskinin yükselmesine neden olabilmektedir (36). Ayrıca vitamin A, antioksidan özelliğinden dolayı endometrium mukozasının korunması ve dolayısıyla embriyo canlılığının devam ettirilmesi için gereklidir (132, 133). Yağda eriyen vitaminler arasında yer alan A vitamini tabiatta fazla bulunmaz. Ön maddesi olan  $\beta$ - karoten bitkilerde yaygın olarak bulunur. Eğer  $\beta$ -karoten bol miktarda alınırsa A vitamini ihtiyacı da karşılanmış olur (134, 135). A vitaminin ön maddesi olarak bilinen  $\beta$ -

karotenin de ineklerin fertilitesi üzerine olumlu etkisi olduğu bildirilmektedir (136, 137). Özellikle steroid hormon üreten Cl,  $\beta$ -karoten bakımından zengin olduğu ve bu yüzden  $\beta$ -karotenin vitamin A ile birlikte luteal hücrelerin işlevlerinde önemli bir role sahip olduğu belirtilmektedir (138, 139). Süt ineklerinde,  $\beta$ -karoten luteal hücrelerden progesteron salınımında rol oynar. Bu yüzden progesteron yetersiz sentezine bağlı olarak şekillenebilecek zigotun uterusu implante olamamasını ve erken embriyonik ölüm riskini azaltmaktadır (140). Ayrıca  $\beta$ -karoten, anti-oksidatif etkisinden dolayı implantasyon döneminde uterusu oksidatif hasara karşı korumaktadır. İmplantasyon için uygun uterus ortamı sağlayarak gebeliğin devamı garanti altına alınmaktadır (141, 142).

Gossen ve ark. (143), serum  $\beta$ -karoten düzeyi düşük ineklerin reproduktif performansının daha düşük olduğunu bildirmişlerdir.

İneklerde,  $\beta$ -karoten takviyesiyle (300 mg/gun) uterus involusyonunun hızlandığı, ilk östrus ve ilk ovulasyonun erken gerçekleştiği, ovaryum kisti görülme sıklığı ve embriyonik ölüm oranlarının düştüğü bildirilmiştir (123, 144).

Chew ve ark. (145),  $\beta$ -karotence yetersiz beslenen ineklerde yavru zarlarının atılamaması ve endometritis riskinin arttığını bildirmişlerdir.

#### **2.2.2.3.2.2. Vitamin E**

Vitamin E, hücre membranında bulunan yağda eriyen bir vitamindir. Vitamin E ve selenyum birlikte değerlendirilir ve organizmada antioksidan etkiye sahip olmaları yanında, yeterli immun cevabın oluşmasında da rol oynarlar (146). Süt ineği rasyonlarında tavsiye edilen vitamin E miktarı 1000 IU/kg olarak bildirilmektedir (147). E vitamini en önemli biyolojik antioksidanlardan biridir. Biyolojik membranları oksidatif dejenerasyondan koruyarak, biyolojik antioksidan olarak selenyum ile karşılıklı role sahiptirler (148) Doymamış yağ asitleri çift bağa sahip olduklarından serbest oksijen radikalleri ile hızlı bir şekilde reaksiyona girer ve hücre zarının yapısını bozarlar (149, 150). E vitamini ve selenyum biyolojik membranların korunmasında oksidan ve serbest radikallerin oluşumlarını önlemek için birlikte hareket ederler (151).

E vitamini, antioksidan özelliğinden dolayı hücre içi ve hücreler arası zarların oksidasyonunu önleyerek dokuların yapılarını korur ve işlevlerini yerine getirmesini sağlar (148). Özellikle ovaryumlardaki steroid üreten doku ve uterusu implante olmamış embriyonun serbest oksijen radikallerine karşı oldukça duyarlı olması nedeniyle serbest



radikallerin infertiliteye neden olabileceği ifade edilmektedir (152, 153). Vitamin E ve selenyum progesteron sentezinde de rol oynarlar. Selenyum'un ayrıca embriyonun yaşama gücünü arttırdığı da ifade edilmektedir (154).

Selenyum ve vitamin E noksanlıklarında gebe kalma oranının düştüğü, retensio sekundinarum görülme oranının yükseldiği bildirilmektedir (155). Benzer şekilde selenyum ve vitamin E eksik olan sürülerde ovaryum kisti ve metritis görülme sıklığı sırasıyla % 47 ve % 84 iken, selenyum ve vitamin E ilavesiyle bu oranlar sırasıyla % 19 ve % 60'a düşmektedir (15, 135).

### **2.2.2.3.2.3. Vitamin D**

Vitamin D, kalsiyum ve fosforun absorpsiyonu, metabolizması ve normal kemik gelişimi için esansiyel bir vitamindir (156). Vitamin D noksanlığı normal koşullar altında, güneş ışığı gören hayvanlarda ortaya çıkmaz. Ancak modern hayvancılığın yapıldığı kapalı sistem ahırlarda ya çok az güneş ışığı gören, ya da hiç güneş ışığına maruz kalmayan hayvanlarda rastlanabilir. Vitamin D, barsaklardan Ca emilimini artırır ve kemik Ca dengesini düzenler (157, 158). Vitamin D, ilk östrusun görülmesini de etkilemektedir (159). Kolesterolün kullanımı ve pregnolün progesterona dönüşümünde rol alıp; steroidgenezi etkilediği gibi GnRH ve LH sekresyonlarını da etkilemektedir (160). Uterus involusyonunu geciktiren, güç doğum, son atamama ve prolapsus uteri riskini artıran hipokalseminin önlenmesinde rol oynamaktadır (161, 162).

### **2.2.2.3.2.4. B Grubu Vitaminler**

B grubu vitaminler yetişkin sığırlarda rumende sentezlenebildikleri için eksiklikleri pek gözlenmez. Bunun yanında başta enerji metabolizması olmak üzere protein ve yağ metabolizmasını etkilemeleri nedeni ile hatalı besleme ve hastalık hallerinde eksiklikleri önemlidir. B grubu vitaminlerinden tiyamin (B1) doğada yaygın olarak bulunur ve eksikliği ender gözlenir. Yetersizliği, iştahsızlık yanında enerji metabolizmasında aksamalara sebep olması dolayısıyla önemlidir (163). Niasin (B3) karbonhidrat, protein ve yağ metabolizması ile ilgili reaksiyonlarda anahtar rol oynar. Pantotenik asit (B5) metabolik reaksiyonlar için önemlidir (163). Eksikliğinde büyümede gerileme ve fertilitede azalma kaydedilmiştir. Bir diğer B grubu vitamini olan B<sub>12</sub> iz minarallerden kobalt (Co) ile yakın ilişkili olup eksikliğinde gelişme geriliği, anemi ve pubertasa erişimde gecikmeler saptanmıştır(163).

#### 2.2.2.3.2.5. Vitamin C

Vitamin C, vücutta sentezlenir ve antioksidan özelliğinden dolayı, gebeliğin devam ettirilmesine yardımcı olmaktadır. Östrus siklusu sürecinde plazma vitamin C düzeyi yüksektir (164). Vitamin C de vitamin D gibi hipokalseminin önlenmesinde rol oynadığından (157, 158), dolaylı olarak uterus involusyonunun gecikmesinde, güç doğumda ve prolapsus uteri riskinin artmasında etkilidir (162).

#### 2.2.2.4. Protein

Protein, büyüme, yaşlanan dokuların onarımı, süt üretimi ve fötusun sağlıklı gelişimi için gerekli besin maddesidir. Modern süt işletmelerinde protein gereksinmesi canlı ağırlık, süt verim düzeyi, laktasyon dönemi vb. parametreler dikkate alınarak hesaplanmaktadır. İşletmedeki hayvanlar arasındaki süt verimi, yaş, gebelik vb. gibi farklılıklar protein gereksinmesinin net olarak belirlenmesini engelleyebilmektedir (165). Bundan dolayı yüksek süt verim seviyesinin devamlılığı için genel olarak ihtiyaç miktarının üzerinde protein düzeyine sahip rasyonlarla besleme tercih edilmektedir (166).

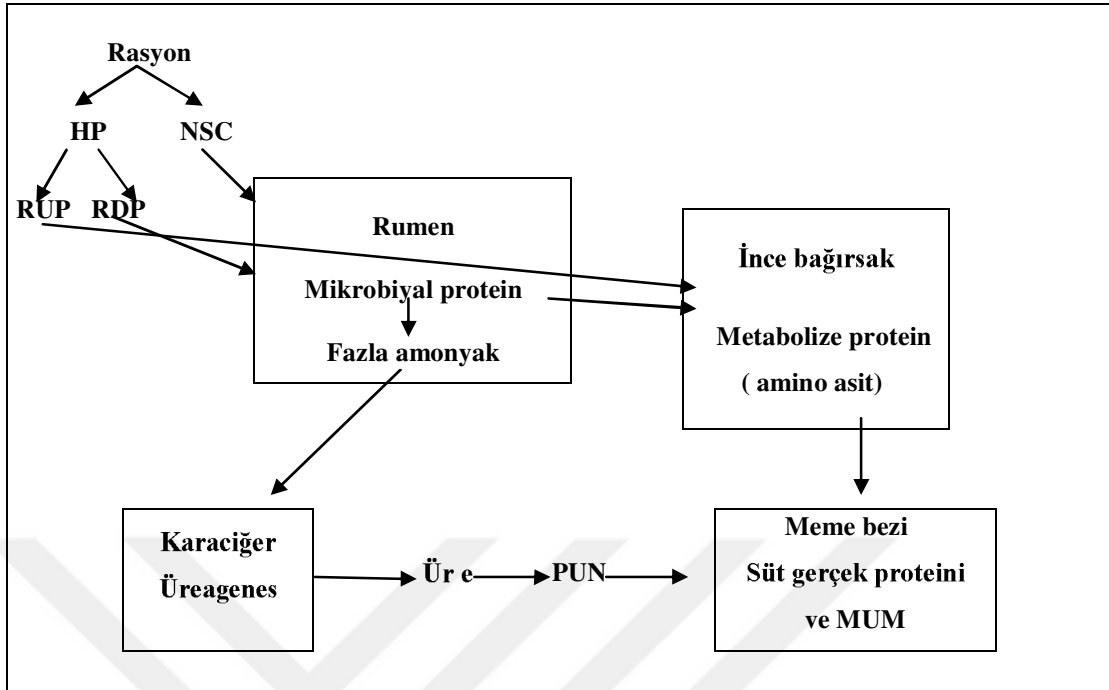
Protein düzeyinin hem eksikliği hemde fazlalığı üreme performansını olumsuz etkilemektedir (167). Rasyonda protein yetersizliğinin ilk belirtisi, yem tüketiminin azalmasıdır. Yem tüketimi düşerken; başta selüloz sindirimi olmak üzere tüketilen yemin sindirilebilirliği de düşmektedir. Eğer protein eksikliği vitamin A ve fosfor eksikliği ile birlikte görülüyorsa ciddi dölvürme sorunlarına neden olmaktadır (168). Ayrıca erken laktasyonda ortaya çıkan enerji açığını vücut yağ depolarını harcayarak karşılayabilen hayvanın rasyonda protein yönünden desteklenmesi, enerjinin verimli kullanımı için gereklidir. Protein yetersizliği, hayvan sağlığını doğrudan etkilediği gibi düzensiz östrusa da neden olmaktadır. Rasyona yeterli miktarda protein ilavesiyle östrus aktivitesinde artış kaydedildiği bildirilmektedir (167).

Protein fazlalığı da (%17-19 ham protein) süt verimi üzerinde uyarıcı etkiye (60, 61, 89, 169) sahip olmakla birlikte; rumen, kan, süt, folikül ve uterus sıvılarında amonyak ve üre düzeyinin artmasına da neden olmaktadır (89, 170). Yüksek proteinli rasyonla beslenen hayvanlarda, proteinin oranı kadar niteliği de önemlidir. Yapısı aminoasitlerden oluşan protein kaynağı ile NPN bileşiklerinin rasyondaki miktarı birbirinden ayrılmalıdır. Rasyonla alınan proteinlerin bir kısmı ile üre gibi azotlu

bileşikler (NPN), rumende mikroorganizmalar tarafından amonyak ve karbondioksite kadar yıkımlanmaktadır. Diğer sindirim kompartımanlarına geçmeden rumende mikroorganizmalarca yıkımlanan bu proteinlere “rumende yıkımlanabilen proteinler” denir. Mikrobiyal faaliyet sırasında protein ve diğer azotlu bileşiklerin parçalanması sonucu oluşan amonyağın bir kısmı mikroorganizmaların büyümesi ve çoğalmasında kullanılmakta; bir kısmı ise emilerek kan dolaşımına katılmaktadır (171). Kana karışan amonyak rumino-hepatik dolaşım ile karaciğerde üreye dönüştürülmekte ve bir kısmı burada depolanmaktadır. Öte yandan, karaciğerde depolanan ürenin bir kısmı kan ve tükrük yoluyla tekrar rumene geri dönmekte ve özellikle protein yetersizliğinin söz konusu olduğu koşullarda mikroorganizmalar için azot kaynağı olarak görevini sürdürmektedir (171, 172). Fazla olan üre ise yine kan yoluyla böbreklere taşınmakta ve daha sonra idrar ile dışarı atılmaktadır.

Rasyondaki parçalanabilir protein düzeyinin gereksinimin üzerinde olduğu ve protein/enerji senkronizasyonunun sağlanamadığı koşullarda ise mikroorganizmalarca kullanılmayan ya da mikrobiyal proteine dönüştürülemeyen amonyak rumen duvarlarından emilerek vücut sıvılarındaki amonyak ve üre düzeyinin hızla yükselmesine neden olmaktadır (Şekil 2. 4) (173). Vücut sıvılarında üre düzeyinin artması da süt sığırlarında erken embriyonik ölümler, embriyonik gelişim ve implantasyonu olumsuz etkileyerek fertilitite sorunlarına neden olmaktadır (174).

Rumende azot kullanım etkinliği, mikrobiyal protein sentezi ile ilgilidir ve sentez fermente edilebilir organik madde ile rumende yıkılabilir proteinden gelen amonyak azotu arasındaki dengeye bağlıdır (60). Fermente edilebilir organik madde ve amonyak azotu arasındaki dengesizlikler yemin azotunun ve enerjisinin kullanım etkinliğini düşürmektedir. (60, 174). Rasyonda hayvanın ihtiyacından fazla protein bulunması ve yüksek oranda bulunan (%18 den fazla) ham proteinin bileşiminde, Rumende Parçalanabilen Protein (RDP)'nin oranının fazla olması fertilitiyi olumsuz etkiler (60, 168). Rasyonda HP içeriği %12 (%3,5 Rumende Parçalanamayan Proteinler = RUP ve %8,5 Rumende Parçalanabilen Protein= RDP) olduğunda geçiş döneminde KM tüketiminin yüksek seyrettiği ve doğuma yaklaştıkça KM tüketiminin yavaşça düştüğü gösterilmiştir (175). Ayrıca, erken laktasyonda ortaya çıkan enerji açığını vücut yağ depolarını harcayarak karşılayabilen hayvanın, rasyonda protein yönünden desteklenmesi, enerjinin verimli kullanılması açısından da gereklidir (66).



Şekil 2.5: Ruminantlarda protein metabolizmasının (82)

Doğumdan sonra aşırı protein tüketiminin reproduktif parametreler üzerindeki olumsuz etkisi enerji ile de ilişkilendirilebilmektedir. Ürenin amonyaka dönüştürülmesi için gereken enerji postpartum döneminde var olan negatif enerji dengesinin daha da kötüleşmesine neden olmaktadır (60).

De Wit ve ark. (176), süt verimine bağlı olarak Süt Üre Nitrojeni (MUN) için normal değerlerin 8-12 mg/dl olduğunu, 19 mg/dl'den yüksek değerlerin üreme performansında olumsuz etkiye sahip olabileceğini bildirmişlerdir. Çalışma sonucunda üreme performansındaki azalmanın ürenin oosit ya da embriyo üzerindeki toksik etkisinden de kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir. Yüksek üre konsantrasyonunun medyumlarda kültür edilen oositlerin metafaz II safhasına geçenlerinin sayısını azalttığını kaydetmişlerdir.

Benzer şekilde, Armstrong ve ark. (177), *in vitro* ya da *in vivo* koşullarda yaptıkları çalışmalarda, üre ya da yüksek düzeyde proteinin oosit sayısını ve ileri aşamada blastosit safhasına ulaşan embriyo sayısını azalttığını tespit etmişlerdir (Tablo 2. 5).

**Tablo 2. 5.** Orta ve yüksek düzeyde HP içeren rasyonlarla beslenen laktasyondaki ineklerin gebe kalma oranları (GB %) ve plazma üre azotu (PUN) konsantrasyonları (mg/dl) (178)

Referanslar	%13-16 HP		%19-21 HP	
	GB %	PUN (mg/dl)	GB %	PUN (mg/dl)
Jordan ve Swanson, (1979) (179)	53	NR	40	NR
Folman ve ark., (1973) (180)	56	8,8	44	15,4
Kaim ve ark.,(1983) (181)	57	9	43	17
Howard ve ark.,(1987) (182)	87	15	85	26
Caroll ve ark., (1988) (183)	64	11	56	24
Bruckental ve ark.,(1989) (184)	65	25	52	32
Canfield ve ark., 1990(185)	48	12	31	19
Elrod ve Butler, 1993(186)	83	< 1 6	62	> 16
Barton ve ark., 1996 (187)	41	8,5	44	22
Ortalama	61	12,8	51	22,2

Uterus koşullarındaki en büyük değişiklik erken embriyonal gelişim için kritik dönem olan luteal fazda meydana gelmekte ve yüksek üre konsantrasyonu, olumsuz bir ortam oluşturarak embriyonun yaşam gücü üzerinde etkili olmaktadır (83,166).

Butler (89), yüksek üre düzeyi ile uterus pH ve diğer iyon konsantrasyonlarında meydana gelen değişikliklerin kızgınlık siklusunun özellikle diöstrus fazında olduğunu ve bu değişikliğin östrus fazında gözlenmediğini bildirmiştir. Rhoads ve ark. (166) diöstrus fazında etkili olan progesteron hormonu ile üre konsantrasyonu arasında da negatif yönlü bir ilişkinin olabileceğini ileri sürmektedir. Bu ilişki embriyonal gelişimi dikkate almaksızın gebeliğin sonlanmasına neden olmaktadır.

Jordan ve ark. (188), vücut sıvılarında üre ya da amonyak konsantrasyonunun artması LH'nun ovaryumlardaki reseptörlere bağlanmasını engelleyebildiğini dolayısıyla serum progesteron konsantrasyonunun düşmesine ve üreme performansında azalmalara neden olabileceğini bildirmişlerdir.

Coşkun ve ark. (189), yüksek düzeyde protein tüketiminde LH salgılanmasında artış, serum progesteron düzeyinde azalış olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca kan ürekonsantrasyonu, gebe kalma süresi ve gebelik başına düşen tohumlama sayısı üzerinde de etkili olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Gustafsson ve Carlsson (190), rasyonun ham protein düzeyinin %17 den %19.3'e çıkartılması durumunda gebe kalma süresi ile gebelik başına düşen tohumlama sayısının arttığını saptamışlardır.

Ferguson ve Chalupa (174), erken laktasyonda yüksek süt verimi elde etmek için rasyonda protein düzeyinin yüksek tutulmasının süt verimini arttırdığını fakat negatif enerji dengesinin süresini ve şiddetini arttırarak dölveriminin düşmesine neden olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Yüksek protein alımının olumsuz etkileri aşağıdaki gibi sıralanabilir;

- 1) Rasyonun HP düzeyinin artırılması (%13'ten %23'e), uterus salgısındaki amonyak ve üre konsantrasyonunu artırır, uterus sıvısındaki pH'yı yükseltir (191).
- 2) Uterus salgısındaki yüksek üre konsantrasyonu sperm, yumurta ve gelişmekte olan embriyo üzerinde toksik etki yaparak embriyonun yaşama gücünü düşürür (192).
- 3) Yüksek Protein tüketen ve bu nedenle yüksek plazma üre düzeyine sahip ineklerde plazma progesteron düzeyinin düşük oluşu gebeliğin oluşması ve devamı için risk oluşturur (60, 179).
- 4) NED düzeyini şiddetlendirir (174, 193).
- 5) PGF $2\alpha$  sekresyonunu artırır (194, 195).
- 6) Hipotalamus - hipofiz - ovaryum iletişimini olumsuz etkileyerek luteal fazın geç oluşmasına ve kısa sürmesine neden olduğu gibi gebelik için tohumlama sayısını artırarak boş gün sayısının uzamasına sebep olur (144, 179).
- 7) Yüksek üre düzeyi ile uterusun pH'sı ve iyon konsantrasyonlarında meydana gelen değişiklikler kızgınlık siklusunun özellikle diöstrus fazında etkili olur (89).

Rasyonun protein düzeyinin belirlenmesi önemlidir. Guthrie ve West (196), rasyonun protein düzeyinin belirlenmesinde aşağıda verilen unsurların dikkat edilmesi gerektiğini bildirmişlerdir.

- I- Proteinlerin fertilité üzerine olumsuz etkilerinin engellenmesi için rasyonda ham protein düzeyi hayvanın süt verimine göre ayarlanmalıdır. Hesaplamalarda genel olarak 100 g yem proteininin vücutta 60 g süt proteinine dönüştüğü göz önünde bulundurulur. Ayrıca yüksek süt verimli, erken post partum dönemdeki ineklere verilen rasyonun ham protein azotu içinde NPN azotu oranı %35'i geçmemelidir.
- II- Ham proteinin en az %35'i RUP' den oluşturulmalıdır. Bunun için rasyona yağlı tohum küspeleri, sanayi yan ürünleri (mısır gluten unu/yemi, et-kemik unu, balık unu) veya muamele edilmiş yem maddeleri gibi by-pass protein kaynakları katılmalıdır.
- III- NPN kaynakları hayvan başına günlük en fazla 180 gr üreye eşit olmalıdır.
- IV- Protein etkinliğini artırmak ve mikrobiyal protein sentezini teşvik etmek için rumen motilitesini engellemek kaydıyla rasyonda kaba yem miktarı azaltılıp kolay fermente olabilir tahıl tane yemlerinin artırılması gerekir.
- V- Proteinlerin rumende yıkımlanmalarını azaltmak ve rumeni by-pass ederek diğer sindirim komponentlerine geçmesini sağlamak için korunmaları yoluna gidilebilir.

Garcia-Bojalil ve ark. (193), ekonomik nedenlerle rasyonun RDP seviyesinin yüksek olduğu durumlarda Cl'unun etkinliğini ve progesteron düzeyini artırmak için uzun zincirli yağ asitlerinin kalsiyum tuzlarının verilebileceğini belirtmişlerdir. Ergün ve ark. (128), erken laktasyon döneminde ortaya çıkan negatif enerji balansının önlenmesi için bu dönemde hayvanların enerji yönünden zengin rumende kolay yıkımlanabilen proteinlerce fakir rasyonla beslenmesi gerektiğini bildirmişlerdir.

Shaver ve Howard (197), proteinlerin rumende yıkımlanmalarını azaltmak ve rumeni by-pass ederek diğer sindirim komponentlerine geçmesini sağlamak

için metiyoninin hidroksi analogu gibi yapay aminoasit analoglarının rasyona katılabileceğini belirtmişlerdir. Proteinler, yağ ve yağ-kalsiyum karışımları ile kaplanarak korunabilir. Yemlerin ısıya maruz bırakılması veya formaldehit ile muamelesi, kesif yem vermeden önce kaba yem verilmesi gibi değişik yöntemlerle proteinlerin rumende yıkımlanması azaltılabilmektedir.

Donör ineklerin beslenmesiyle ilgili çalışmalar incelendiğinde, bazı literatürlerde donör ineklerin yüksek süt verimli inekler gibi beslenmesi tavsiye edilirken (198), bazı çalışmalarda da %12 ham proteinli yemle beslemenin yeterli olacağı bildirilmektedir (5, 199). Akyol ve ark. (35), donör ineklere ek beslenme uygulanmadığında, donör inek başına elde edilen embriyo sayısında ve embriyo kalitesinde azalma olduğunu ifade etmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar, donör ineklerin süperovulasyon uygulamasına olan cevabın çok değişken olduğunu belirtmişlerdir.

Yüksek HP içeren rasyonlarla yemleme sonucu kandaki amonyak artışının immun sistem fonksiyonlarını azalttığı ve uterusun enfekte olma riskini arttırdığı da ileri sürülmektedir (200).

Elrod ve Butler (186), düvelerdeki embriyo kayıplarının, yüksek düzeyde rumende yıkılabilir protein içeren fakat enerjice sınırlı yemle beslenmeden kaynaklandığını ifade etmişlerdir. Looney (198), donör ineklerin %12 HP içeren yemle beslenmesinin yeterli olacağını bildirirken (Tablo 2.7); Mikkola ve ark (21), ineklerde süperovulasyon cevabının rasyondaki HP düzeylerinden (%14 ve %18) istatistikî olarak etkilenmediğini ifade etmişlerdir. Yüksek proteinin doğum sonrası ovaryum aktivitesi üzerine olan etkisine yönelik çalışma sonuçları Tablo 2.6'da özetlenmiştir (60).



**Tablo 2.6.** Süt ineklerinde yüksek HP ve doğum sonrası ovaryum aktivitesi arasındaki ilişki (60).

Rasyondaki HP, %	İlk östrus veya ovulasyon üzerine etkisi	Kaynak
20,0	13 gün gecikmiş	Butler, (1998) (60)
20,0	4 gün gecikmiş	Barton ve ark., (1996) (187)
19,0	Önemsiz	Canfield ve ark., (1990) (185)
19,3	9 gün gecikmiş	Jordan ve Swanson., (1979) (188)
19,4	Önemsiz	Kaim ve ark., (1983) (181)
20,0	Önemsiz	Carroll ve ark., (1988) (183)

Yüksek protein tüketiminin reproduktif parametreleri olumsuz yönde etkilediği ifade edilirken (60); bu parametrelerin yapılan uygulamalardan etkilenmediğini bildiren araştırmalara da rastlanılmaktadır (101, 187).

NRC 2001 (61), kurudaki ineklere rasyonun HP içeriğini arttırmak için üre ve soya küspesi verilmesi durumunda, rumende yıkılabilir protein düzeyinin, laktasyondaki yüksek süt verimli ineklere göre daha yüksek olduğunu belirtmiş, buna karşın Garcia-Bojalil ve ark. (201) ise embriyo kalitesinin üzerine negatif etkisi gözlenmediğini bildirmiştir. Rhoads ve ark. (202) da benzer şekilde üreyle beslemede aşırı protein tüketiminin süperovulasyon uygulanmış laktasyondaki ineklerde embriyo kalitesini etkilemediğini bildirmişlerdir.

Blanchard ve ark. (203), laktasyondaki ineklerin protein yıkılabilirliği farklı yemlerle beslenmesinin transfer edilebilir embriyo sayısını etkilemediğini buna karşılık transfer edilebilir embriyo oranında bir azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir.

Petit ve ark. (199) laktasyonda olan veya laktasyonda olmayan süt ineklerinin östrus siklusu esnasında karma yemlerinde yüksek düzeyde protein bulunmasının plazma progesteron düzeylerine etkisinin sürekli olmadığını bildirmişlerdir (Tablo 2. 7).

**Tablo 2.7:** Rasyon ham proteini-plazma progesteron düzeyi ilişkisi (199)

Rasyondaki HP, %	Plazma prostaglandin üzerine etkisi	Laktasyon	Kaynak
19,3	%25 azalmış <sup>1</sup>	Evet	(60)
20,0	%50 azalmış <sup>1</sup>	Evet	(192)
20,0	Önemsiz	Evet	(187)
27,4	Önemsiz	Hayır	(201)
21,8	Önemsiz	Hayır	(199)

(Döner ineklerin rasyonu yapılırken 650 kg canlı ağırlıkta, günlük süt verimi 45 kg, sütteki yağ düzeyi %3.7 olan bir süt ineğinin ihtiyaçlarını NRC 2001'e göre baz almışlardır).

Araştırmacılar transfer edilebilir embriyo sayısının, rasyondaki enerji tüketimi azaldıkça artış gösterdiğini, rasyondaki yağ kaynağının kullanılabilir embriyo sayısı üzerine bir etki yapmadığını tespit etmişlerdir.

Uterus koşullarındaki en büyük değişiklik erken embriyonal gelişim için kritik dönem olan luteal fazda meydana gelmekte ve yüksek üre konsantrasyonu olumsuz bir ortam oluşturarak, embriyonun yaşam gücü üzerinde etkili olmaktadır (202).

#### 2.2.2.5. Metiyonin

Ruminantların protein beslenmesinde ilk hedef verim ve üretim yönünde, hayvanın protein kullanımını optimize etmesidir. Bu amaçla yapılan uygulamalar arasında yeme aminoasit katılması önde gelmektedir. Erken laktasyondaki yüksek süt verimli inekler belli başlı aminoasitlerin eksikliği yüzünden maksimum süt üretimine ulaşamayabilirler. Süt protein sentezi ile süt verimi için metiyonin birinci sınırlayıcı aminoasittir.

Metiyonin kükürt içeren bir aminoasit olup, fosfolipidlerin, karnitin, kreatin ve poliaminlerin sentezinde görev almaktadır (11, 204). Aynı zamanda da protein sentezinde kullanılmaktadır. NRC 2001 (61)'e göre süt ineklerinin dengeli rasyonlarla beslenmesi durumunda metiyonin ve lizinin sınırlayıcı iki aminoasit olduğu bildirilmektedir.

Aminoasitlerin süt veriminin ve metabolik protein kullanım etkinliğinin iyileştirilmesi, yemden yararlanmanın artırılması, metabolik rahatsızlıkların azaltılması, verimin artırılması ve bağışıklık sisteminin düzenlenmesi gibi görevlerinin olduğu bildirilmektedir (205),

Süt ineklerinin mısıra dayalı yemlerle beslenmesi durumunda metiyonin ve lizinin, süt verimi ve süt proteini sentezi için sınırlayıcı olduğu kaydedilmiştir. Lizin ve metiyonin vücutta, rumendeki bakterilerde ve sütte bulunmaktadır (61, 206). Bakteri, süt ve dokulardaki amino asit içerikleri Tablo 2.8’de yer almaktadır.

**Tablo 2. 8.** Aminoasit içerikleri (toplam esansiyel aminoasitlerin %’si olarak) (207, 208, 209)

<b>Amino Asitler</b>	<b>Bakteri</b>	<b>Doku</b>	<b>Süt</b>
Arginin	10,5	14,2	7,2
Histidin	4,1	6,3	5,6
İsolöysin	11,7	11,5	12,1
Löysin	16,7	15,1	20,0
Lizin	16,3	17,2	16,7
Metiyonin	5,4	5,6	5,3
Fenilalanin	10,5	9,6	10,1
Treonin	12,0	9,6	9,5
Valine	12,8	10,9	13,6

Yüksek verimli süt inekleri süt verimlerini destekleyecek yeterince mikrobiyalprotein sentezi yapamazlar. Bu nedenle by pass protein kaynakları bu ineklerin beslenmesinde önemlidir. Öte yandan, by pass protein kaynaklarının büyük kısmı lizin ve metiyonince yeterli olmadığı için korunmuş metiyonin ve lizin kullanımı zorunluluk haline gelir.

Foroughi ve ark. (210), yeme korunmuş metiyonin ve lizin katkısının süt ineklerinde süt protein düzeyini artırdığını, süt üre nitrojen seviyesini ise düşürdüğünü tespit etmişlerdir. Korunmuş metiyoninin yüksek verimli süt ineklerinde üreme performansını iyileştirdiğini de ileri sürmüşlerdir.

Waterman ve ark. (211), tropik koşullar altında düşük kaliteli otlarla beslenen hayvanların beslenmesinde özellikle metiyoninin gebeliği sınırlayıcı bir aminoasit olduğunu bildirmişlerdir.

Alonso ve ark. (212), rumende korunmuş metiyonin katkısının *Bos indicus* düvelerin üreme performansına olan etkilerini araştırmış ve kuru dönemin sonunda metiyonin- üre katkılı yemlerle beslemenin ovaryum aktivitesini ve foliküler dinamiği iyileştirdiğini ifade etmişlerdir. Katkı yapılmadan önceki dönemde folikül dinamiği gruplar arasında benzer bulunmuş; Cl'lu hayvanlarda farklılık görülmemiştir. Katkı yapılan periyotda ise çapı dokuz mm'den büyük olarak sınıflandırılan foliküllerin oranı, kontrol grubuna nazaran artış göstermiştir. Senkronizasyon periyodu esnasında, kontrol grubunun yemiyle beslenen hayvanların çoğunda çapı altı mm'den küçük foliküllerin bulunduğu ve Cl'lu düvelerin oranı, 45 gün boyunca günde 10 g korunmuş metiyonin katkılı beslenen grupta %40 çıkarken; katkı yapılmayan grupta ise %18.7 olduğu bildirilmiştir.

Ardalan ve ark. (213), rumende korunmuş metiyonin ile kolinin süt ineklerinin verim, üreme performansı ve sağlık durumlarını iyileştirdiğini ifade etmişlerdir. Wright ve ark. (214), yüksek verimli süt sığırlarında korunmuş metiyoninin süt veriminde, süt proteininde ve sütün kazein içeriğinde önemli artışlar sağladığını ortaya koymuşlardır. IIIg ve ark. (215), mısır-soya küspesine dayalı rasyonlara günlük 15 g ruminal yoldan korunmuş metiyonin ilavesinin süt veriminde yaklaşık %7 oranında bir artış sağladığını bildirmiştir. Schingoethe ve ark. (216) ise, rumende düşük düzeyde yıkılabilir protein kaynaklarıyla beslenen ineklerde süt veriminin, korunmuş metiyonin katkılı soya küspesiyle beslenen ineklerle benzer olduğunu tespit etmişlerdir.

Overton ve ark. (217), rumende yıkıma dirençli protein olarak, buğday, balık unu, tüy unu ve kan unundan oluşan bir konsantre kullanarak, rumende dirençli proteinin süt sığırlarında süt protein verimi üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar rumende yıkıma dirençli protein konsantrasyonunun rasyonda artmasına paralel olarak süt proteininin de arttığını bildirmişlerdir.

Sancanari ve ark. (218), korunmuş metiyonin ile korunmamış metiyoninin süt ineklerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmalarında korunmuş metiyonin katkısının süt verimini artırmadığını, fakat erken laktasyondaki ineklerde süt yağ içeriğini iyileştirdiğini bildirmişlerdir.

Bazı araştırıcılar (219), sentetik metiyonin ile beslemede süt protein içeriğinin arttığını bildirirken; bazıları da (220) bir değişiklik saptamamışlardır. Süt yağ düzeyleri metiyonin katkısı ile artarken (220), bazen de değişmemiştir (219).

Korunmuş metiyonin katkısına olan tepkiler, metiyoninin her zaman birinci sınırlayıcı aminoasit olmadığını ve diğer amino asitler veya diğer faktörler ile ortak sınırlayıcı olabileceğini göstermektedir (221).

Bauchart ve ark. (222), yeme metiyonin katkısının ruminantların karaciğerindeki lipoprotein sentezini artırdığını, ancak bu artışın oldukça düşük olduğunu ve muhtemelen de biyolojik öneminin olmadığını tespit etmişlerdir. Bertics ve Grummer (223), metiyonin hidroksi analogunun sınırlı düzeyde beslenen ineklerin karaciğerindeki trigliserit düzeyini etkilemediğini bildirirken; Brusemeister ve Südekum (224), korunmuş metiyoninin kolin metabolizmasını pozitif yönde etkileyebileceğini bunun sonucu olarak da karaciğerdeki çok düşük yoğunluktaki lipoproteinlerin sentezini uyaracağını bildirmişlerdir. Bobe ve ark. (225), metiyonin, lizin, karnitin ve kolinin eksikliğinde karaciğerde yağlanma meydana geldiğini saptamışlardır. Metiyonin ve lizinin intravenöz verilmesinin karaciğerdeki çok düşük yoğunluktaki lipoproteinlerin sentezini arttırdığını bildirmişlerdir.

Strzetelski ve ark. (226), korunmuş metiyoninin buzağılama öncesi yem tüketimi üzerine olan olumlu etkisinin karaciğer fonksiyonunun daha etkili olmasıyla ilgili olduğunu bildirirken; Pisulewski ve ark. (227), da buzağılamadan sonra bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

Rulquin ve ark. (228), korunmuş metiyoninin ineklerin performanslarını olumlu etkilediğini ve yemlerine pelet olarak katılabileceğini ifade etmişlerdir.

Girard ve ark. (229), karma yeme folik asit ve rumende korunmuş metiyonin katkısının süt ham proteini ve kazein konsantrasyonunu modifiye ettiğini buna karşılık orta ve geç laktasyonda süt verimini etkilemediğini, erken laktasyonda buzağılamadan sonraki sekiz haftada serum folat ve sistein düzeyini arttırdığını, vitamin B<sub>12</sub> ile metiyonin düzeyinin

azaldığını saptamışlardır.

Gao ve ark. (230), rumene korunmuş metiyonin ve niasin verilmesinin erken laktasyondaki inekler için yararlı olduğunu bildirmişlerdir.

Strzetelski ve ark. (226), korunmuş metiyoninin süt verimi, süt kompozisyonu, canlı ağırlık ve VKS üzerine bir etkisinin olmadığını, buzağılamadan sonraki günlerde veya doğum öncesi kan glikoz konsantrasyonunu arttırdığını ve korunmuş metiyonin düzeyi ile nişasta kaynağı arasında önemli bir interaksiyonun olmadığını bildirmişlerdir.

Tşinacty ve ark. (231), yüksek süt veren ineklerin süt verimi ile plazma amino asit içeriğine olan etkilerini saptamak amacıyla yaptıkları bir çalışmada, en düşük süt verimi (32.46 kg, 32.13 kg/gün) korunmuş lizin ve metiyoninle beslenen grupta belirlenirken rumende korunmuş metiyonin ve lizinin birlikte kullanılmasının ortalama süt verimi (34.18 kg/gün), üzerine olumlu etki yaptığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada kan metabolitlerinin konsantrasyonları, betahidroksibutirat haricinde değişmemiş, süt yağı en fazla kontrol grubunda çıkmış, ortalama üre düzeyi korunmuş metiyonin katkılı grupta en düşük bulunmuştur.

İneklerde yapılan başka bir çalışmada (232) korunmuş metiyonin verilmeyen hayvanlarda gebelik oranının düştüğü, korunmuş metiyoninle beslenen hayvanlarda ise amniyon kesesi hacmi, embriyo boyutu ve gebelik oranının arttığı belirtilmiştir. Üreme üzerine etkisi araştırılan amino asitlerden en önemlileri metiyonin ve arginindir (233, 234). Fertilizasyondan sonra embriyonun ilk birkaç günlük gelişimi yumurta kanalında daha sonraki gelişimi rahim boynuzunda tamamlamaktadır. 6 ile 7. gün blastosist aşamasına ulaşan embriyo daha sonra yaklaşık 9. günde rahim duvarına yapışır. Rahim duvarına yapıştıktan sonra embriyo gebelik Cl'u ve gebeliğin devamı için gerekli olan protein, interferon-tau salgılar. 25-28. günlerde plasenta yoluyla vasküler ilişki kurmaya başlar. Embriyo gelişimi için uterusunda bulunan serbest amino asitler, enerji ve uterus salgılarının konsantrasyonu önemlidir. Bu nedenle, embriyo gelişiminin farklı aşamalarına eşlik eden amino asit konsantrasyonlarının embriyo kalitesini etkilediği bildirilmektedir (235).

Polan ve ark. (236) da korunmuş metiyonin ve lizin takviyesinin gebelik başına tohumlama sayısı veya buzağılama aralığını önemli düzeyde etkilediğini

kaydetmişlerdir. Coelho (237) da in vitro ortamda inek serumunda sıçan embriyoların gelişiminin için metiyonin takviyesinin yeterli olduğunu belirtmişlerdir.

Lara (238), post partum dönemde (15-96. günler arası) farklı seviyelerde (0, 8, 16 and 24 gr/ gün (15 korunmuş metiyonin verilmesinin LH and Progesteron düzeyine etkisini inceledikleri çalışmada, 8 and 24 g düzeyde metiyonin ilavesinin postpartum ilk 75 gün boyunca progesterone birikimini arttırdığı, LH konsantrasyonunu etkilemeksizin Cl'un fonksiyonunu iyileştirdiği ortayakonulmuştur.

Yukarıda açıklandığı üzere metiyoninin süt verimi ve kalitesi üzerine etkisi ortaya konulmuş ancak donör hayvanlarda embriyo kalitesi ve embriyo transferinde başarı oranı üzerine metiyoninin etkisini belirlemek için çok az sayıda çalışma vardır. Döl verimi üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmalarda metiyoninin embriyo gelişimi ve hayatta kalma gücü için en önemli amino asitlerden biri olduğu gösterilmiştir. Polipeptidler için bir ön-madde olarak işlev gören metiyoninin embriyo üzerine etkisinin, antioksidan etkisinden ve DNA metilasyonunun etkilemesinden kaynaklandığı ileri sürülmektedir. Metiyoninin blastosit embriyonun blastosel boşluğunun boyutunda artış sağlaması embriyo kalitesini arttırmaktadır. Sığırlarda ortalama metiyonin konsantrasyonları yumurta sıvısında 32-49 umol /l, rahim sıvısında 31-46 umol / l, ve kan plazması içinde 16-35 umol / l' olduğu ve bu konsantrasyonların üzerinde metiyonin bulunmasının embriyo yaşama oranını artırabileceği belirtilmektedir (239).

Son yıllarda MOET gibi modern ıslah tekniklerinin uygulanmasına bağlı olarak donör hayvanların beslenme düzeylerinin de dikkate alınması önemle vurgulanmakta; ancak bu konuda son derece sınırlı bilgiler bulunmaktadır. Yapılan literatür çalışması sonucu donör ineklerin beslenmesine yönelik ayrıntılı çalışma bulunmadığı görülmüştür. Bu nedenle bu çalışmada korunmuş metiyoninin donörlerde süperovulasyon protokolü ile elde edilen embriyoların kaliteleri üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

### **3. TEZ ÇALIŞMASININ YÖNTEMİ**

Bu çalışmada donör ineklerde korunmuş metiyonin'in embriyo kalitesi üzerine etkisinin araştırılması amaçlandı. Bu amaçla her bir grupta donör olarak seçilen yedi baş Holştayn inek kullanıldı. Çalışmada kontrol ve deneme grubu hayvanlarının beslenmesinde % 40 kesif yem %60 kaba yem içeren Toplam Karma Rasyon (TMR) kullanıldı. Deneme grubunda bulunan ineklere deneme süresince kontrol rasyonuna ilave olarak her hayvan için 15 gram/gün korunmuş metiyonin oral yolla verildi. Süperovulasyon protokolü uygulamaları esnasında besleme programında değişiklik yapılmadı. Hayvanlara uterus yıkaması yapılarak embriyolar toplandı. Bulunan embriyolar kalite ve gelişim safhalarına göre sınıflandırılarak sayıldı. Transfer edilebilir nitelikteki kaliteli embriyolar taşıyıcı hayvanlara transfer edildi. Araştırmada, embriyo nakledilen taşıyıcı ineklerde 50. günde ultrason yapılarak gebelik kontrolleri yapıldı.

#### **3.1. Hayvanların Seçimi**

Laktasyonun başında, benzer laktasyon sayısında (1.-2.), benzer süt veriminde (yaklaşık  $\geq 35$  kg/günlük), benzer canlı ağırlıkta (500-550 kg) ve benzer VKS'na (3.0-3.5) sahip toplam 14 baş Holştayn inek donör (Şekil 3.1-3.2) ve 56 baş Holştayn inek (500-550 kg CA, 1. laktasyonda) taşıyıcı olarak kullanıldı. Donör hayvanlar, biri kontrol grubu ve diğeri deneme grubu olmak üzere her birinde yedi baş inek bulunan iki gruba ayrıldı.



### 3.2. Hayvanların Beslenmesi

NRC (2001) tarafından tanımlanan formüller kullanılarak her hayvan için (canlı ağırlık, süt verimi, süt yağı, VKS dikkate alınarak) gerekli besin madde gereksinimi ve kuru madde tüketimi hesaplandı. Çalışmada kontrol ve deneme grubu hayvanlarının beslenmesinde en az %40 konsantre yem %60 kaba yem içeren TMR kullanıldı. Kaba yem+konsantre yem toplamı TMR'yi oluşturdu. TMR de kaba yem olarak; mısır silajı, yonca kuru otu ve saman kullanıldı. Konsantre yem olarak ise; yapısında ortalama %20 HP, 2650 kcal/kg ME içeren süt karma yemi kullanıldı (Tablo3.1).

**Tablo 3.1.** Denemede hayvanlara verilen günlük yem miktarları.

Yem hammaddeleri	Süt verimi $35 \geq$ kg
Konsantre yem (%19 HP), kg	6
Konsantre yem (%21 HP), kg	4
Mısır silajı, kg	20
Arpa, kg	2
Saman, kg	3
Yonca, kg	5

Her bir hayvan için hesaplanan günlük yem miktarı (TMR) hayvanlara iki öğünde (sabah 8<sup>30</sup> ve öğleden sonra 15<sup>00</sup> de) eşit miktarlarda verildi. Korunmuş metiyonin kullanımının etkisinin araştırıldığı deneme grubunda bulunan ineklere deneme süresince kontrol rasyonuna ilave olarak her hayvan için 15 gram/gün korunmuş metiyonin ağızdan verildi. Korunmuş metiyonin ticari bir firmadan temin edildi (Smartamine M<sup>TM</sup>, Adisseo, Antony, France). Deneme grubunda bulunan ineklere verilecek korunmuş metiyonin bileşimi Tablo 3.2.'de görülmektedir.

**Tablo 3.2.** Deneme grubunda kullanılan korunmuş metiyoninin bileşimi.

Korunmuş metiyonin içeriği	Miktar
Nem	En fazla %1
DL-Metiyonin	En az %70
Taşıyıcı	% 29

### 3.3. Yemlerin Analizi

Denemede kullanılan yem hammaddeleri ve TMR'de kuru madde (KM), ham protein (HP), ham yağ (HY), ham selüloz (HS), nötr deterjan çözeltisinde çözünmeyen lifli bileşikler (NDF), asit deterjan çözeltisinde çözünmeyen lifli bileşikler (ADF) analiz edildi.

Yemler kimyasal analizler için yaklaşık 1,0 mm elek çapındaki İKA-A10 laboratuvar tipi değirmende (IKAWerke, Almanya) öğütüldü. Kuru madde, HP, HY ve HS düzeyi AOAC (1995)'ye göre saptandı. ADF, NDF ve ADL analizleri Van Soest ve ark. (240) tarafından bildirilen metotlar doğrultusunda yapıldı.

### 3.4. Denemenin Yapılışı

#### 3.4.1. Süperovulasyon Protokolü

Kontrol ve deneme grubunda bulunan inekler 10 günlük bir alıştırma döneminden sonra 20 gün süre ile yukarıda içeriği belirtilen rasyonla beslendi. Çalışmanın 30. gününden sonra süperovulasyon protokolü uygulamalarına başlandı. Süperovulasyon protokolü uygulamaları esnasında besleme programında değişiklik yapılmadı.

#### Süperovulasyon protokolünde;

- FSH (Folltropin -V),
- Senkronizasyon amacıyla CIDR (5 mg östradiol (E)-17 $\beta$  + 100 mg progesteron),
- Prostaglandin (Dalmazin/Dinolitic),

- Uterus yıkanması için hazır flash solusyonu (%1 buzağı serumu-1000 ml laktatlı ringer, %0,1 Kanamisin) ve
- Embriyoları uterustan toplamak amacıyla çift yönlü foley kateteri kullanıldı.

### **Süperovulasyon amacıyla,**

- 1-Uygulamanın başında (0. gün) foliküler gelişimin senkronizasyonu amacıyla donörlere kontrollü ilaç salınımı yapan CIDR (5 mg östradiol (E) 17 $\beta$  + 100 mg) progesteron uygulaması yapıldı.
- 2-Bu uygulamadan 7-8 gün sonra günde iki kez (12 saat ara ile sabah ve akşam ) olmak üzere dört gün süreyle azalan dozlarda (80:80 mg, 60:60mg, 40:30 mg, 30:20 mg) toplam 400 mg FSH kas içi uygulandı.
- 3-FSH uygulamasının 3. ve 4. günü var olan Cl'un regresyonu ve ovulasyonun sağlanması amacıyla iki kez PGF2 $\alpha$  (500  $\mu$ g Cloprostenol Estrumate) enjeksiyonu yapıldı.
- 4-FSH uygulamanın üçüncü günü akşamı ilaç CIDR (progesteron) çıkarıldı.
- 5-Son FSH uygulamasından sonra östrus gösteren hayvanlar, takip eden 12, 24 ve 48. saatlerde üç kez olmak üzere 0,25 ml payetlerle tohumlandı. Tohumlama sırasında ultrasonla foliküller takip edilerek bu hayvanlara 2 ve 3. tohumlamayla beraber GnRH enjeksiyonu yapıldı.
- 6-Süperovulasyona alınan her hayvanın FSH hormonu kullanmadan ve uterusu yıkamaya başlamadan önce Cl sayısı, yoğunluğu, boşluklu olup olmadığı ve çapı ultrason yardımı ile belirlendi.
- 7-Tohumlamayı takip eden 7. veya 8. günde uterus yıkaması yapıldı (Şekil 3.14). Kornu uteriler hazırlanan solüsyon kullanılarak (300-500 ml) ayrı ayrı yıkandı. Yıkama amacıyla 37°C sıcaklıkta ve içerisinde hazır solüsyon bulunan şişe ve balon kateter kullanıldı. Uterusun bifurkasyon noktasından yaklaşık olarak 5 cm ileride 15-20 ml hava ile şişirilerek, yıkama solüsyonu önce küçük hacimler (50–70 ml) şeklinde uterusu verildi. Arkasından sıvı akışının kendiliğinden olması beklenildi. Uterus kornusuna dolan sıvıyı boşaltmak amacıyla öncelikle uterus pelvis çatası üzerine çekilerek uygun boşalma pozisyonuna getirildi, sonra klips açılıp, kornulara masaj yapılarak sıvının kolaylıkla boşaltılması temin

edildi. Her bir kornu uteri hazırlanan solüsyonla yıkanarak toplam 800- 1000 ml sıvı, steril şişede toplandı.

8-Steril şişede toplanan sıvı, filtrasyon amacıyla 70 µm genişliğinde gözenekleri olan filtreler (EMCON filtre) kullanılarak süzülüp üç adet petri içerisine alındı (Şekil 3.15). Isıtmalı stereo mikroskoplar ile embriyo taramaları yapıldı (Şekil 3.16). Bulunan embriyolar kültür mediumuna aktarılarak 38,5°C'de, %5'lik CO<sub>2</sub>'li inkübatörde bekletildi. Bulunan embriyolar kalite ve gelişim safhalarına göre sınıflandırıldı (Şekil 3.17).

### **3.5. Embriyoların Kalite ve Gelişim Safhalarına Göre Sınıflandırılması**

Süperovulasyon sonucu elde edilen embriyoların değerlendirilmesi, gelişim durumlarına ve kalitelerine göre yapıldı. Kalitelerine göre embriyolar, mükemmel, iyi, vasat ve zayıf olarak değerlendirildi. Ayrıca fertilize olmamış (UFO) ve dejenere olmuş embriyolar da tespit edildi. Embriyo değerlendirmesi sonucunda mükemmel ve iyi kalitedeki embriyolar ayrı bir petriye alındı ve payetlere konularak nakil için hazırlandı.

#### **3.5.1. Embriyoların Gelişim Safhaları**

Embriyonun gelişim aşaması uterustan toplanma zamanına göre değişim gösterir. Östrustan üç gün sonra 4-8 hücreli embriyo, 4 gün sonra 8-16 hücreli embriyo, 5-6 gün sonra morula, 7. gün kompakt morula ve blastosist, 8. gün ise uterus yıkamalarında blastosist ve genişlemiş (expanded) blastosist aşamasında embriyo elde edilir (241). Fertilize olmuş ovumun gelişim safhaları Tablo 3.3'te, mikroskop görüntüleri Şekil 3.1-6'da gösterilmiştir.

**Tablo 3.3:** Fertilize olmuş ovumun normal gelişme safhaları

Yaş (Gün)*	Gelişme safhası
5.	Morula (16-32 hücre)
6.	Kompakt morula
7.	Erken blastosist
8.	Genişlemiş blastosist
9.	Zona serbest blastosist

\*Östrus günü "0" olarak kabul edilmiştir.

Hücre sayısının 16'nın üzerine çıkmasıyla embriyo morula adını alır (Şekil 3.1). Hücre topu manzarasında bir yığın göze çarpar. Tek tek hücreleri ayırt etmek oldukça güçtür. Perivitellin boşluk çok geniş değildir (241).

**Şekil 3.1:** Morula safhası

Kompakt morula aşamasında, hücreler tamamen birleşip kaynaşarak bir kompleks yığın halini almıştır (Şekil 3.2). Perivitellin boşluk morula aşamasına göre daha geniştir (241).

**Şekil 3.2:** Kompakt morula safhası

Erken blastosist aşamasında, bir kısım hücrelerin erimesi ile içi sıvı dolu ve adına "Blastosel" denen bir kavite meydana gelir (Şekil 3.3). Bu haliyle blastosist taşlı bir yüzüğü andırır. Perivitellin boşluk erken blastosist safhasındakinden biraz daha geniş olabilir. İleri dönemlerde "inner cell mass" ve "trophoblast" denilen kısımlar gelişir (241).



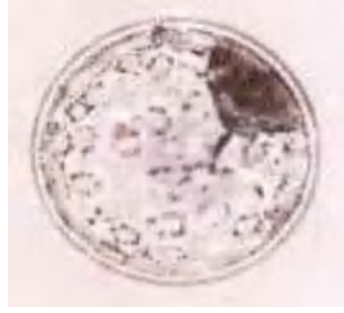
**Şekil 3.3:** Erken blastosist safhası

Blastosist aşamasında, dış kısımda trofoblastik hücreler ve daha koyu görümlü "inner cell mass" oluşmuştur (Şekil 3.4). İleride genel hatları itibariyle, birinciden plasenta diğerinden ise fötüs gelişecektir. Blastosel kavite oldukça genişlemiş, perivitellin boşluk neredeyse tamamen dolmuş durumdadır (241).



**Şekil 3.4:** Blastosist safhası

Genişlemiş (expanded) blastosist aşamasında, embriyonun çapı 1,2-1,5 katı kadar artmış, zona dikkate değer biçimde (1/3katı) incelmıştır (Şekil 3.5). Bazı durumlarda kısmi blastosel kaybına bağlı olarak embriyoda çöküntüleri görmek mümkündür (241).



**Şekil 3.5:** Genişlemiş (expanded) blastosist safhası

Zona serbest (hatched) blastosist aşamasında, embriyo zonadan tamamen kurtulmuş olabilir ya da olmayabilir (Şekil 3.6). Zonasından tamamen çıkmış bir embriyoda blastosel çöküntüler daha bariz olarak tespit edilebilir. Ancak bu durumdaki bir embriyo deneyimsiz çalışanlar tarafından başka bir oluşumla karıştırılabilir (241).



**Şekil 3.6:** Zona serbest (hatched) blastosist safhası

### 3.5.2. Embriyo Değerlendirme

Embriyo değerlendirilmesi, morfolojik yapı itibariyle yani şekil, renk, sitoplazma yoğunluğu ve dejeneratif alanların tespiti şeklinde yapıldı. Embriyo sınıflandırılmasında aşağıda belirtilen kriterler dikkate alındı (241).

#### Mükemmel (A)

Farkedilebilecek hiçbir kusuru yoktur. Embriyo küresel yapıda, simetrik, hüresel yapı ve renk uniformite gösterir. Zonası düzgün ve sağlamdır (Şekil 3.7).



**Şekil 3.7:** Mükemmel (A) sınıfı embriyolar

### İyi (B)

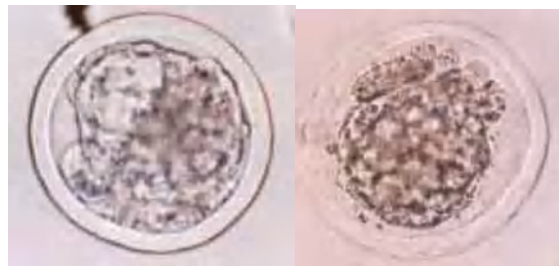
Önemsiz birkaç kusura sahiptir. Örneğin, gruptan ayrılmış düzensiz şekil veren birkaç blastomer vardır ya da birkaç vezikül mevcuttur. Bütün bu bozukluklar hücrenin %10 kadarını veya daha azını teşkil eder (Şekil 3.8).



**Şekil 3.8:** İyi (B) sınıfı embriyolar

### Vasat (C)

Yukarıda bahsedilen bozukluklar %10-30 arasındadır. Dejenere bölgeler bulunabilir (Şekil 3.9).

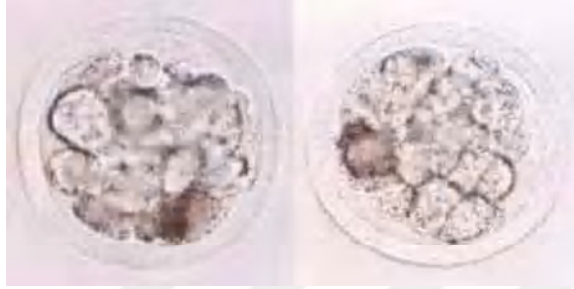


**Şekil 3.9:** Vasat (C) sınıfı embriyolar



### Zayıf (D)

%30-50 arasında bir bozukluk görülür. Bunlar dejenere bölgeler, farklı büyüklükte hücresel oluşumlar, geniş veziküllerdir (Şekil 3.10).



Şekil 3.10: Zayıf (D) sınıfı embriyolar

### UFO (Unfertilize Ova)

Fertilize olmadığı için koyu renkli tek bir hücre yığını şeklinde görülür (Şekil 3.11).



Şekil 3.11: Unfertilize ova (UFO)

Embriyo değerlendirmesi sonucunda mükemmel ve iyi kalitedeki embriyolar ayrı bir petriye kondu ve payetlere alınarak nakil için hazırlandı.

### 3.6. Taşıyıcı Hayvanlara Embriyo Transferi

Östrus siklusunun 7. gününde donör ineklerden elde edilen blastosist aşamasındaki embriyolar, embriyonun transfer edileceği uterus ortamının embriyonun gereksinimlerine cevap verebilmesi ve implantasyonun gerçekleşmesini sağlaması için senkronize edilen ve östrus sikluslarının 7-8. günlerinde bulunan taşıyıcı ineklere transfer edildi. Uygulamaya başlamadan önce, taşıyıcı ineklerin rektal muayeneleri yapılarak Cl'ları dikkatlice incelendi. Uygun Cl'u bulunmayan ya da herhangi bir

üreme kanalı patolojisine sahip inekler uygulamadan çıkartıldı.

Kalite değerlendirmesi tamamlandıktan sonra embriyolar taşıyıcı hayvana transfer için 0,25 ml'lik payetlere kültür mediumu içine alındı. Daha sonra embriyo yüklü payet embriyo transferi için özel olarak tasarlanmış embriyo transfer kataterine yerleştirildi ve üzerine naylon kılıf takılarak vajen içerisine sokulan kataterin serviksi geçmesi sağlandı. Serviksin geçilmesinden sonra, ilk olarak katatere takılan naylon kılıf yırtılarak çıkarıldı ve kataterin ucunun Cl'un bulunduğu taraftaki kornu lumenine travmaya neden olmadan hızlı ve nazik bir biçimde yerleştirildi. Uygun pozisyon alan kataterin stilesi itilerek embriyonun lumene geçmesi sağlandı ve katater dikkatli bir biçimde dışarıya çıkarıldı. Böylece embriyo transfer işlemi gerçekleştirilmiş oldu. Embryo transferi yapılan ineklerde gebelik kontrolleri 50. günde ultrason marifeti ile yapıldı (241).



Şekil 3.12: Donör hayvanlardan biri



Şekil 3.13: Donör hayvanlardan biri



Şekil 3.14: Hayvanlara uterus yıkama uygulanması



Şekil 3.15: Embriyoların filtreler (EMCON) ile süzülmesi



Şekil 3.16: Isıtılmalı stereo mikroskoplar ile embriyoların taranması



**Şekil 3.17:** Embriyoların kalite ve gelişim safhalarına göre sınıflandırılması

### **3.6. İstatistikî Analiz**

Denemede senkronize edilen hayvanlardan her birindeki folikül ve Cl sayıları (adet) ile büyüklükleri (ml) t-testi ile toplam embriyo, transfer edilebilen embriyo ve transfer edilemeyen embriyo ve fertilize olamamış yumurta sayıları ve gebelik oranları Ki-kare testi ile karşılaştırıldı. Hesaplamalarda MINITAB istatistik paket programından yararlanıldı (242).

## 4. BULGULAR

Denemede kullanılan yemlerin analiz sonucu elde edilen besin madde bileşimleri Tablo 4.1’de gösterilmiştir.

**Tablo 4.1:** Deneme grubunda kullanılan yemlerin BM bileşimleri

Yem maddesi	KM, %	HP, %	HY, %	HS, %	NDF, %	ADF, %	ADL, %
TMR	45,32	14,8	1,75	27,81	56,32	34,03	6,18
Yonca kuru otu	93,03	17,54	1,86	25,55	45,74	33,84	13,57
Mısır silajı	24,37	8,05	2,63	29,46	60,91	38,63	4,42
Konsantre yem (% 21 HP)	93,66	17,29	6,88	8,99	24,55	15,83	6,18
Konsantre yem (% 19 HP)	94,62	17,42	6,05	11,09	28,24	13,27	4,53

(TMR: Toplam karma rasyon, KM: Kuru madde, HP: Ham protein, HY: Ham yağ, HS: Ham selüloz, NDF: Nötr deterjan çözeltisinde çözünmeyen lifli bileşikler ADF: Asit deterjan çözeltisinde çözünmeyen lifli bileşikler, ADL: Asit deterjan lignin)

Superovulasyon sonrası ovumun ultrason görüntüleri Fotograf 4.1-4.4’te gösterilmiştir.



**Şekil 4.1:** Superovulasyon sonrası metiyonin grubu ovumun ultrason görüntüleri



**Şekil 4.2:** Superovulasyon sonrası metiyonin grubu ovumun ultrason görüntüleri





Şekil 4.3: Superovulasyon sonrası kontrol grubu ovumun ultrason görüntüleri



Şekil 4.4: Superovulasyon sonrası kontrol grubu ovumun ultrason görüntüleri

Çalışmada, donör ineklerde korunmuş metiyoninin folikül sayısı ve büyüklüğü, Cl sayısı ve büyüklüğü, elde edilen embriyo sayısı, transfer edilebilir embriyo sayısı, transfer edilemeyen embriyo sayısı, UFO sayısı ve gebelik oranı ortalama ve median değerleri ile standart sapmaları Tablo 4.2' de gösterilmiştir.



**Tablo 4.2:** Donör ineklerde korunmuş metiyoninin folikül sayısı ve büyüklüğü, CI sayısı ve büyüklüğü, toplam embriyo, transfer edilebilir embriyo, transfer edilemeyen embriyo sayısı, UFO ve gebelik oranına etkisi (n:7)

Gruplar	Folikül (adet)		Folikül (ml)		CI (adet)		CI (ml)		Toplam embriyo sayısı (adet)		Transfer edilen embriyo sayısı (adet)		Transfer edilemeyen embriyo sayısı (adet)		UFO (adet)		Gebe kalan hayvan sayısı (adet)	
	Kontrol	Metiyonin	Kontrol	Metiyonin	Kontrol	Metiyonin	Kontrol	Metiyonin	Kontrol	Metiyonin	Kontrol	Metiyonin	Kontrol	Metiyonin	Kontrol	Metiyonin	Kontrol	Metiyonin
Ortalama	10,86	7,86	12,14	12,43	8,14	6,71	15,4	15,43	2,57	2,86	1,29	1,57	1,29	1,29	1,29	1,14	0,57	0,57
Standart hata [AI]	5,30	2,27	2,67	2,51	4,06	2,430	1,57	2,37	2,23	3,24	1,799	2,58	1,89	1,38	2,63	1,46	0,79	0,79
Median (%25-%75)	11 (9-15)	8 (6-10)	10 (10-15)	12 (10-15)	9 (6-12)	7 (4-9)	15 (14-16)	15 (15-16)	3 (0-5)	2 (0-5)	1 (0-2)	0 (0-2)	0 (0-4)	1 (0-3)	0 (0-2)	0 (0-3)	0 (0-1)	0 (0-1)

Denemede Cl sayısı bakımından kontrol ve metiyonin grubu arasında önemli bir farklılık olmamakla birlikte ( $P>0.05$ ), kontrol grubunda daha fazla Cl belirlenmiştir (Tablo 4.3).

**Tablo 4.3:** Donör hayvanlara metiyonin verilmesinin CL sayısı, embriyo kazanma oranı, transfer edilebilir ve transfer edilemeyen embriyo oranı, UFO oranı ve gebelik oranına etkisi

GRUP	CL sayısı $\bar{x} \pm s_x$	Embriyo kazanma oranı	Transfer edilebilir embriyo oranı	Transfer edilmeyen embriyo oranı	UFO oranı	Gebelik oranı
Kontrol	8.14±1.530	47.4 (27/57)	50.0(9/18)	50.0(9/18)	33.3(9/27)	44.4(4/9)
Metiyonin	6.71±0.918	59.6 (28/47)	55.0(11/20)	45.0(9/20)	28.6(8/28)	36.4(4/11)
P değeri	0.445	0.215	0.758	0.758	0.702	0.714

Aynı sütunda gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ).

Metiyonin verilen grupta, Cl sayısının kontrol grubundan az olmasına rağmen elde edilen embriyo kazanma oranı (%59.6) rakamsal olarak kontrol grubundan (%47.4) daha yüksek bulundu (Tablo 4.4).

**Tablo 4.4:** Donör hayvanlara metiyonin verilmesinin elde edilen toplam embriyo sayısı ve oranına etkisi

	Kontrol grubu	Metiyonin grubu	Toplam
Elde edilen embriyo sayısı ve oranı	27/57 (%47.37)	28/47 (%59.57)	55
Elde edilemeyen embriyo sayısı ve oranı	30/57 (% 52.63)	19/47 (% 40.43)	49
Toplam	57	47	104

$$\chi^2 = 1.540$$

$$P = 0.215$$

Çalışmada, metiyoninin transfer edilebilir embriyo sayısı ve oranına istatistiki anlamda önemli bir etkisi bulunmadı ( $P>0.05$ ). Ancak kontrol grubunda transfer edilebilir embriyo oranı %50 iken metiyonin grubunda % 55 olarak belirlendi (Tablo 4.5).

**Tablo 4.5:** Donör hayvanlara metiyonin verilmesinin transfer edilebilen ve edilemeyen embriyo sayısı ve oranına etkisi

	Kontrol grubu	Metiyonin grubu	Toplam
Transfer edilebilir embriyo sayısı ve oranı	9 (% 50.00)	11 (% 55.00)	20
Transfer edilemeyen embriyo sayısı ve oranı	9 (% 50.00)	9 (% 45.00)	18
Toplam	18	20	38

$$\chi^2 = 0.095 \quad P = 0.758$$

Kontrol grubunda her bir inek için UFO sayısı 1,29, UFO oranı %33,3, metiyonin grubunda ise UFO sayısı 1,4 ve UFO oranı % 26,8 olarak bulundu (Tablo 4.6).

**Tablo 4.6:** Donör hayvanlara metiyonin verilmesinin UFO oranına etkisi

	Kontrol grubu	Metiyonin grubu	Toplam
UFO sayısı ve oranı	9 (% 33.33)	8 (% 28.57)	17 (% 28.57)
Toplam	9	8	17

$$\chi^2 = 0.146 \quad P = 0.702$$

Metiyonin UFO sayısının azalmasına neden olduysa da, bu azalma istatistiki olarak önemli değildi ( $P>0.05$ ).

Kontrol grubunda donörlerden elde edilen embriyolardan kaliteli olan dokuz embriyonun transfer edildiği taşıyıcı ineklerden dört tanesi gebe kaldı ve gebelik oranı %44,4 olarak belirlendi. Metiyonin grubunda ise 11 adet embriyo transfer edildi ve dört adet gebelik belirlendi. Metiyonin grubunda gebelik oranı da % 36.4 ile kontrol grubundan daha düşük olsa bile gruplar arası farklılık önemli bulunmadı ( $P>0,05$ ) (Tablo 4.7).

**Tablo 4.7:** Donör hayvanlara metiyonin verilmesinin gebelik sayısı ve oranına etkisi

	Kontrol grubu	Metiyonin grubu	Toplam
Gebe kalan inek sayısı ve oranı	4 (% 44.44)	4(% 36.36)	8
Gebe kalmayan inek sayısı ve oranı	5 (% 55.56)	7 (% 64.64)	12
Toplam	9	11	20

$$\chi^2 = 0.135$$

$$P = 0.714$$

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Sığırlarda genetik ilerlemeyi ve damızlıkların sayısını kısa sürede artırmayı amaçlayan embriyo transferinde başarıyı etkileyen pek çok faktör vardır. Beslenmede bu faktörler arasında ilk sırada yer almaktadır. Oosit olgunlaşması, fertilizasyon ve implantasyondan önceki dönemde embriyo gelişiminin annenin beslenmesine duyarlı olduğu kaydedilmiştir. Ayrıca gebelikten önceki dönemde beslenme faktörlerinin, hayvanı gebelik boyunca etkilediği gibi yetişkin yavruların fizyolojik ve metabolik sağlığını da etkileyebildiği bildirilmiştir (234).

Donör ineklerden alınan transfer edilebilir kalitedeki embriyo sayısı, bu embriyoların nakledildikleri uterusta yaşamını sürdürmesi ve gebelik sürecinin buzağı doğumuyla tamamlanması embriyo transferinin başarı oranını doğrudan etkilemektedir (243). Bu nedenle transfer edilen embriyoların kalitesi üzerine etkili olan beslenme faktörleri ve etki mekanizmalarının açıklığa kavuşturulması, embriyo transferi uygulamalarının başarısı ve yaygınlaşması açısından oldukça önem arz etmektedir. Rasyon enerji, protein, vitamin ve mineral madde içeriği, besin maddelerinin tüketilen formları ve biyolojik değerlilikleri ile üreme performansı arasında yakın ilişki bulunduğu bilinmektedir. Yüksek HP içeren rasyonların erken laktasyon döneminde yüksek süt üretimini uyarırken, fertilitenin azalmasına yol açtığı, özellikle rumende yıkılabilir protein oranının fazla olmasının erken laktasyon esnasında negatif enerji dengesini şiddetlendirerek veya uterus ortamında pH'nın artmasına yol açarak fertilitate problemlerini artırdığı kaydedilmiştir (174). Protein düzeyinin eksikliği veya fazlalığı döl verimini etkilediği gibi metiyonin gibi bazı esansiyel aminoasitlerinde döl verimi

üzerinde etkili olduğu ileri sürülmektedir (244). Kükürt ihtiva eden bir amino asit olan metiyonin fosfolipidler, karnitin, kreatin ve poliaminler gibi pek çok bileşiğin sentezinde rol almaktadır. Metiyoninin türevi S- adenzilmetiyonin de enzimatik reaksiyonlarda metil grubu vericisidir. Buradan hareketle metiyoninin döl verimi üzerine etkisinin araştırıldığı son çalışmalarda, metiyoninin DNA metilasyonu (DNMT) üzerinden embriyo kalitesini etkilediği kaydedilmiştir (239). Metilasyon, biyolojik sistemlerde, genomun normal olarak düzenlenmesini ve gelişmesini sağlayan kimyasal bir reaksiyon olup epigenetik mekanizmanın en iyi bilinenidir. Gen aktivasyonu, baskılanması ve kromatin şekillenmesi gibi epigenetik olaylarda yani gen ekspresyonunun düzenlenmesini sağlamaktadır (245). Anormal DNA metilasyonunun, DNA kırıkları ve kromozom segregasyonunda kusurlarla sonuçlandığı kaydedilmiştir.

Genomik DNA hipometilasyonunun kromozomal değişme ve anormal segregasyonla ilişkili olduğu bildirilmektedir. DNA'nın metilasyonu ile 'metil transferaz' olarak adlandırılan trans etkili enzimler tarafından gerçekleştirilmektedir. DNA metilasyonu, tüm canlılarda görülen ve çok geniş bir yelpazede biyolojik işlevlerde etkili olan bir olaydır. Bilinen tüm DNA metil transferaz (DNMT) enzimleri metil grubu vericisi olarak S- adenzilmetiyonin (SAM) molekülünü kullanır. SAM hücrelerde metiyoninadenosiltransferaz enzimi katalizörlüğünde metiyonin üzerinden sentez edilir (246). Donörlerin beslenmesinin fetal genomlarda DNA metilasyonu gibi epigenetik değişikliklere neden olabileceği bildirilmiştir (234). Donör ineklerin metiyoninle beslenmesinin preimplantasyon embriyoların transkriptom (DNA, RNA) yapısında kayda değer değişikliklere neden olduğunu ancak metiyonin alan ve almayan hayvanlardan elde edilen embriyoların morfolojik görünümünün aynı puana sahip olmasına rağmen transkriptome farklılık gösterdiğini bildirmişlerdir (234).

Metiyonin katılan ve katılmayan yemlerle beslenen ineklerden elde edilen Cl sayısının benzer olduğunu (247) bildiren çalışma sonucu ile paralel olarak denemede de donör ineklerin ilave metiyonin ile beslenmesinin ovaryumlarda belirlenen folikül ve Cl sayısı bakımından önemli bir farklılığa neden olmadığı belirlendi. Öte yandan Alonso ve ark. (212) ise korunmuş metiyonin katkısının *Bos indicus* düvelerin üreme performansına olan etkilerini araştırdıkları bir çalışmada, üre+melas içeren rasyonlara metiyonin ilavesinin ovaryum aktivitesini ve foliküler dinamiği iyileştirdiğini saptamışlardır. Aynı çalışmada, 45 gün boyunca günde 10 g korunmuş metiyonin katkılı



beslenen grupta Cl'lu düvelerin oranı %40 iken katkı yapılmayan grupta %18,7 olarak bulunmuştur.

Denemede elde edilen toplam embriyo sayısı kontrol ve deneme grubunda sırası ile 2,57 ve 2,56 olarak belirlenmiştir. Daha önce yapılan çalışmalar incelendiğinde bir yıkamada elde edilen embriyo sayısının 4-11 arası değiştii görülmektedir (248). Çalışmada superovulasyona cevabın ve elde edilen embriyo sayısının daha önce yapılan çalışma sonuçlarından daha düşük olması, çalışmada kullanılan hayvanların süt verimlerinin yüksek olmasına, hayvanlara verilen rasyonların yüksek düzeyde HP içermesine bağlanmıştır. Yapılan çalışmalarda (39, 249)'da süt üretimi ile transfer edilebilir embriyo ve toplam embriyo sayısı arasında negatif bir korelasyon olduğu bildirilmiştir. Ayrıca yüksek HP içeren yemlerle beslenen hayvanlarda folikül yanıtı ve embriyo gelişiminin olumsuz etkilendiği, bu etkinin embriyo gelişiminin sonraki aşamalarında da kendini gösterdiği de belirtilmektedir (250). Yüksek HP içeren yemle beslenen hayvanlarda embriyonik ölümlerin arttığı da kaydedilmiştir (251). Dnorlerde süt üretimi arttıkça transfer edilebilen embriyolarda azalma gözlenmiştir. Novotny ve ark. (252), yüksek süt üretiminin embriyo üretimini olumsuz etkilediğini belirtmişler ve yüksek süt verimi ile transfer edilebilir embriyo oranı arasında negatif bir korelasyon olduğunu tespit etmişlerdir. Ayaşan ve ark. (39), düşük süt verimi olan hayvanlarda (< 5000 kg) transfer edilebilen embriyo oranının % 68.64, süt verimi orta olanlarda (5000-7000 kg arası) transfer edilebilen embriyoların % 57.46 ve yüksek süt veren hayvanlarda (> 7000 kg) transfer edilebilir embriyo oranının % 51,09 olduğu tespit etmişlerdir.

Yakub ve ark. (253) da yüksek süt veren ve VKS kötü olan hayvanlarda embriyo kalitelerinin düştüğünü, oosit ve dejenere embriyoların daha fazla sayıda olduğunu belirtmişlerdir.

Nebel (254) da yüksek süt verimi olan hayvanlarda ovaryum aktivitelerinin azaldığını ve bunun sonucunda gebelik oranlarında düşüş tespit edildiğini bildirmişlerdir. Ayrıca literatür incelemelerinde superovulasyona cevabın mevsime, VKS ve superovulasyon sayısı veya uterus yıkama sayısına gibi nedene bağlı olarak değişebildiği kaydedilmiştir (39, 250, 255, 256).

Maslev ve ark. (257), 60 günlük aralıklarla yapılan beş superovulasyon sonucunda bir yıkamadan ortalama 4,8-6,1 arasında değişen sayıda embriyo elde edildiğini; en fazla

embriyonun ise 1. ve 4. yıkamadan sağlandığını kaydetmişlerdir.

Çalışmada kullanılan hayvanların düve olması ve süperovulasyon sayısının ilk olması da elde edilen cevabın düşük olmasının sebeplerinden olabilir. Tekrarlanan süperovulasyon ile ilgili çalışmalarda ineklerde 1. süperovulasyonda elde edilen transfer edilebilir kalite embriyo sayısının  $2.50 \pm 1.10$ , 5. süperovulasyonda elde edilen embriyo sayısının  $6.00 \pm 3.15$  olduğu saptanmıştır (248). Çalışmada genç ineklerin kullanılmasının da hayvan başına elde edilen embriyo sayısının düşük olmasında etkisinin olabileceği düşünülmektedir. Hızlı ve ark. (258)'da süperovulasyon sonrası elde edilen ortalama embriyo sayısının genç donörlerde 5,57, orta yaşlı ineklerde 9,28, yaşlı ineklerde de 7,26 olduğunu saptamışlar ve 4-5 yaş aralığındaki ineklerden elde edilen transfer edilebilir embriyo sayısı ile toplam embriyo sayısının diğer yaş aralığındaki gruplara göre daha yüksek olduğunu, erken yaşlardaki toplam embriyo sayısının daha az olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Embriyonun gelişiminde metiyoninin etkisinin belirlenmesine yönelik ilk çalışma Coelho ve ark. (237) tarafından yapılmıştır. Rat serumunda normal gelişimini (ilk 9 gün) tamamlayan embriyonun sığır serumunda gelişiminin yetersiz olduğu, inek serumuna amino asit+ vitamin, amino asit, vitamin, metiyonin veya rumende korunmuş metiyonin ilave edildiğinde ise embriyo gelişiminin normal olduğu belirlenmiştir. Çalışma sonucunda sığır serumunun metiyonin bakımından yetersiz olduğu ve bu nedenle embriyo gelişiminin aksadığı ancak sığır serumuna metiyonin ilave edildiğinde embriyo gelişiminin normal olduğu kaydedilmiştir. Daha sonra Ikeda ve ark (259), sığır embriyolarının normal gelişimi için metiyonin metabolizmasını inceledikleri çalışmada, sığır embriyo kültürüne metiyonin veya metiyoninin antimetaboliti olan etiyonin ilave etmişlerdir. Ortamda etiyonin bulunmasının embriyonun morula aşamasının gelişimini bloke etmezken blastosit aşamasında gelişimini inhibe ettiğini, S-adenosylmethionine ilavesinin bu aşamada aksayan embriyo gelişimini kısmen düzeltildiğini kaydetmişlerdir. Bundan dolayı embriyonun moruladan blastosit aşamasına gelişimi için metiyoninin esansiyel rol oynadığı ve bununla DNA metilasyon ile ilişkili olduğu bildirilmişlerdir.

Öte yandan Bonilla ve ark (239) fertilizasyondan sonraki ilk bir haftada embriyonun morfolojik olarak normal gelişimi için ihtiyaç duyulan metiyonin miktarının yüksek olmadığını ( $14-21 \mu\text{M/l}$  arasında) belirlemişlerdir. Araştırmacılar, ihtiyaç duyulan

miktarın reproduktif kanalda bulunan metiyonin konsantrasyonuna benzer veya daha düşük olduğunu ve metiyonin eksikliğinin erken dönem embriyo ölümlerinin sebebi olamayacağını kaydetmişlerdir.

Mevcut çalışmada da, metiyoninin toplam embriyo sayısı, transfer edilebilir embriyo sayısı ve oranına önemli bir etkisi bulunamamıştır. Çalışmada toplam embriyo sayısı, transfer edilebilir embriyo sayısı ve oranı ile transfer edilemeyen embriyo sayısı ve oranı bakımından korunmuş metiyonin verilen ve verilmeyen inekler arasında önemli bir farklılık bulunmaması Souza ve ark. (247)'nin çalışma bulgularını desteklemektedir. Souza ve ark. (247) da transfer edilebilir embriyo oranının metiyonin grubunda %56,3, kontrol grubunda %62,5 olduğunu fakat gruplar arası farkın önemli olmadığını saptamışlardır. Acosta ve ark. (260) da rumende korunmuş metiyonin katkısının ineklerde CL sayısı, embriyo sayısı ve kalitesine önemli bir etkisinin olmadığını ancak embriyo metilasyonu ve lipit miktarını etkilediğini kaydetmişlerdir.

Denemede kontrol ve metiyonin grubunda transfer edilebilir embriyo oranının %50, ve % 55 olarak belirlenmesi literatür bulguları ile uyumludur. Hızlı ve ark. (248), donör inek ve düvelerde tekrarlanan superovulasyonların embriyo kalitesi üzerine etkisini araştırdıkları çalışmada, inek ve düveler birlikte değerlendirildiğinde beş superovulasyon sonucu elde edilen transfer edilebilir kalitedeki embriyo sayısı ortalamasının 3.71, toplam embriyo sayısı ortalamasının 5.81, transfer edilebilir embriyo oranı ortalamasının %62,60 olduğunu kaydetmişlerdir. Hızlı ve ark. (258) donör ineklerde yaşın embriyo kalitesine etkisini araştırdıkları başka bir çalışmada, transfer edilebilir embriyo oranının 2-3 veya 4-5 yaşlı donörlerde sırası ile %53,46 ve %63,24 arasında değişim gösterdiğini ifade etmişlerdir. Ayaşan ve ark. (39) da süt veriminin embriyo kalitesine etkisini araştırdıkları bir çalışmada, transfer edilebilir embriyo oranının farklı süt verimine sahip gruplarda %51,09- 68,64 arasında değerler aldığını tespit etmişlerdir.

Çalışmada kontrol grubu donörlerden elde edilen embriyolar ile metiyonin grubu donörlerden elde edilen embriyoların transfer edildiği alıcı ineklerde gebelik oranları bakımından önemli bir farklılık tespit edilmemekle birlikte, gebelik oranları kontrol grubunda (% 44,44) metiyonin grubundan (%36,36) daha yüksek bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada da korunmuş metiyonin takviyesinin gebelik kaybını azaltma eğiliminde olmadığı tespit edilmiştir (232).

Kontrol grubunda her bir inek için UFO sayısı 1,29, UFO oranı %33,3, metiyonin grubunda ise UFO sayısı 1,4 ve UFO oranı % 26,8 bulunmuştur. Döner ineklere ilave metiyonin verilmesi UFO sayısının azalmasına neden olduysa da, bu azalma istatistiki olarak önemli bulunmamıştır.

Sonuç olarak, bu çalışma bulguları donör ineklerin rumende korunmuş metiyonin ile beslenmesinin Cl ve folikül sayısı ile büyüklüğünü, toplam embriyo sayısını, transfer edilebilir embriyo sayısını ve gebelik oranını etkilemediği göstermiştir. Ancak donör ineklerin beslenmesinde metiyonin ve diğer spesifik besin maddelerinin embriyo kalitesine ve embriyo transferinde başarı oranına etkisi tam olarak açıklığa kavuşturulmamış olup bu konuda daha kapsamlı çalışmaların yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

## 6. KAYNAKLAR

1. Özçakır A, Bakır G. Tahirova tarım işletmesinde yetiştirilen siyah alaca sığırların döl ve süt verim özellikleri. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 2003; 34 (3): 223-228
2. Görgülü M, Göncü S, Serbest U, Kıyma Z. Süt sığırlarının üremesinde beslemenin rolü, 7. Ulusal Zootekni Bilim Kongresi, s 9-39, 14-16 Eylül 2011, Çukurova Üniversitesi, Adana
3. Kumlu S. Türkiye’de sığır yetiştiriciliğinde damızlık ihtiyacı ve temini, 7. Ulusal Zootekni Bilim Kongresi, s 1-8, 14-16 Eylül 2011, Çukurova Üniversitesi, Adana
4. Ayaşan T. Nutrition of recipient cows. Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology 2014; 3 (1): 22-27
5. Ayaşan T. Karakozak E. Donör ineklerin beslenmesi. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 2010; 16 (3):523-530
6. Kamalak A, Canbolat Ö, Gürbüz Y, Özay O. Protected protein and amino acids in ruminant nutrition. KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi 2005;8 (2): 84-88
7. Kutlu HR, Serbest U. Ruminant beslemede son gelişmeler. Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi 2014; 2 (1):18-37
8. Karakozak E, Ayaşan T. Ruminant beslemede korunmuş metiyonin kullanımı. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 2010; 5 (1): 58-66
9. Güney M, Karslı MA. Süt ineklerinin protein fraksiyonlarına tepkileri. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi 2014; 24(3): 317-324
10. Gürsoy R, Aktaş Ö, Dane Ş. Beslenme ve besinsel ergojenikler I: Karbonhidrat, Yağ ve Proteinler. Atatürk Üniversitesi Besyü, Beden Eğitimi ve Spor Bilimleri Dergisi 2001; 1(2): 19-27

11. Terzi H, Yıldız M. Ağır metal toleransında kükürt metabolizmasının önemi. Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi 2013; 3 (2): 105-125
12. Sağırkaya H. Sığırlarda embriyo transfer uygulaması ve türkiye açısından önemi. Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 2009; 28(2): 11-19
13. Santos JEP, Cerri RLA, Sartori R. Nutritional management of the donor cow. Theriogenology 2008; 69 (1):88–97
14. Akyol N. Sığır ovaryumlarında folikül-ooosit gelişimi ve ovulasyon fizyolojisi. Türk Veteriner Hekimler Dergisi 2007; 1:50-56
15. Bearden HJ, Fuquay JW, Willard ST. Applied Animal Reproduction, 6th Edition, Prentice Hall, New Jersey, 2004: 61-64
16. Algire JE. Cattle embryo transfer procedure. The Canadian Veterinary Journal 1992; 3 (9): 621.
17. Marahall DM, Minyard JA. Embryo transfer in beef cattle. College of Agriculture & Biological Sciences. South Dakota state university. USA. Updated March, F&F, 2002; 4 (1): 9-3
18. Beal WE. Application of embryo transfer to the beef cattle industry. Factors affecting calf crop: Biotechnology of reproduction, 2002: 131-144.
19. Alaçam E. Evcil hayvanlarda reproduksiyon, suni tohumlama, doğum ve infertilite (Büyük ruminatlarda infertilite). In, Alacam E(Ed), Dizgi Evi Konya, 1994: 265-289
20. Arthur GH, Noakes DE, Pearson H. Veterinary reproduction and obstetrics. 6th Edition. Baillière Tindall, London, 1992: 365-367
21. Mikkola M, Mäntysaari P, Tammiranta N, Peippo J, Taponen J. Effect of dietary protein on embryo recovery rate and quality in superovulated heifers. Animal Reproduction Science 2005; 87 (3): 193–202
22. Novotný F, Hajurka J, Macák V. Relationship between blood serum progesterone levels in cattle donörs and the yield and quality of embryos. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy 2005; 49: 49–52
23. Gordon IR. Reproductive technologies in farm animals, CAB International, Cambridge, 2005: 82-107
24. Gök K. Türkiyede embriyo transferinin önemi-1. Tarım ve Teknik Dergisi Kayseri 2015; 2 (3): 62-64

25. Sartori R, Souza AH, Guenther JN, et al. Fertilization rate and embryo quality in superovulated holstein heifers artificially inseminated with x-sorted or unsorted sperm. *Animal Reproduction (Journal)* 2004; 1 (1): 86-90
26. Betteridge KJ. Farm animal embryo technologies: achievements and perspectives. *Theriogenology* 2006; 65 (5): 905–913
27. Gali C, Duchi R, Crotti G, et al. Bovine embryo technologies. *Theriogenology* 2003; 59 (2) : 599-616
28. Žižlavský J, Říha J, Urban F, Máchal L, Štípková M. Production of embryos from repeated superovulations of cows during one calving interval. *Czech Journal of Animal Science* 2002; 47 (3): 92-97
29. Hasler JF. The holstein cow in embryo transfer today as compared to 20 years ago. *Theriogenology* 2006; 65 (1): 4–16
30. Rajamahendran R, Calder MD. Superovulatory responses in dairy cows following ovulation of the dominant follicle of the first wave. *Theriogenology* 1993; 40 (1): 99–109
31. Hasler JF. Current status and potential of embryo transfer and reproduction in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 1992; 75 (10): 2857–2879
32. Herman HA, Mitchell JR, Doak GA. The Artificial insemination and embryo transfer of dairy cattle. Interstate Publishers, Illinois, 1994: 38-49
33. Siedel GE, Siedel SM. Training manual for embryo transfer in cattle. FAO Animal Production and Health, Rome, 1991: 77-81
34. Kanagawa H, Shimohira I, Saitoh N. Manual of bovine embryo transfer. National Livestock Breeding Center MAFF, JICA, Japan, 1995: 1-44
35. Akyol N, Kızıl SH, Tuncer PB. Ineklerde süperovulasyon ve embryo transferi Çalışmaları. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Dergisi* 2004; 44(1):1–5
36. Smith OB, Akinbamijo OO. Micronutrients and reproduction in farm animals. *Animal Reproduction Science* 2000; 60-61: 549-560
37. Thompson JG. The impact of nutrition on the cumulus oocytes complex and embryo on subsequent development in ruminants. *Journal Reproduction and Development* 2006; 52 (1): 169– 75.
38. Thompson JG. Defining The Requirements for bovine embryo culture. *Theriogenology*, 1996; 45 (1): 27–40

39. Ayaşan T, Hızlı H, Çamlıdağ A, Kara U, Gök K, ve ark. The determination of relationship between milk production and the quality of embryo of donör cows. *Indian Journal of Animal Sciences* 2011a; 81 (9): 912-914
40. Chilliard Y, Bocquier F, Doreau M. Ruminantlarda yetersiz beslenmenin sindirimsel ve metabolik adaptasyonlar ve üreme üzerine etkileri. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2004; 10 (2): 227-241
41. Kutlu HR, Özen, N. Hayvan beslemede son gelişmeler, s 5-71, 24-27 Haziran 2009 VI. Ulusal Zootekni Bilimsel Kongresi, Atatürk Üniversitesi, Erzurum
42. Yaakub H, O'Callaghan D, Boland MP. Effect of type and quantity of concentrates on superovulation and embryo yield in beef heifers. *Theriogenology* 1999b; 51 (7): 1259–1266.
43. Mollo Mollo MR, Rumpf R, Martins AC, et al. Embryo production in superovulated Nelore heifers under low or high feed intake (abstract). *Acta Scientiae Veterinariae* 2007; 35 (3): 1241
44. Bastos MR, Ramos AF, Driessen K, et al. Effect of nutritional flushing on the superovulatory response of crossbred cows (abstract). *Acta Scientiae Veterinariae* 2007; 35 (3) : 1242
45. Bader JF, Kojima FN, Wehrman ME, et al. Effects of prepartum lipid supplementation on FSH superstimulation and transferable embryo recovery in multiparous beef cows. *Animal Reproduction Science* 2005; 85 (1): 61–70
46. Santos JEP, Thatcher WW, Chebel RC, Cerri RLA, Galvão KN. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrous synchronization programs. *Animal Reproduction Science* 2004; 82–83: 513–35
47. Kendrick KW, Bailey TL, Garst AS, et al. Effects of energy balance on hormones, ovarian activity, and recovered oocytes in lactating holstein cows using transvaginal follicular aspiration. *Journal of Dairy Science* 1999; 82 (8): 1731–1741
48. Butler WR. Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livestock Production Science* 2003; 83 (2): 211–218
49. Wiltbank, M, Lopez H, Sartori R, et al. Changes reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. *Theriogenology* 2006; 65 (1): 17-29



50. Leroy JLMR, Vanholder T, Mateusen B, et al. Non-esterified fatty acids in follicular fluid of dairy cows and their effect on developmental capacity of bovine oocytes in vitro. *Reproduction* 2005; 130 (4): 485–495
51. Plaizier JCB, King GJ, Deckers JCM, Lissmore K. Estimation of economic values of indicies for reproductive performance in dairy herds using computer simulation. *Journal of Dairy Science* 1997; 80 (11): 2775-2783
52. Alaçam E. İneklerde infertilite sorunu. Kitap: Alaçam E. Ed, Evcil hayvanlarda doğum ve infertilite. 4. baskı, Medisan Yayınevi, Ankara, 2002; 267-268
53. Alaçam E. Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite. 7. Baskı Medisan Yayınevi, Ankara, 2010; 267-290
54. Bekyürek T. Süt sığırlarında besleme, üreme ve meme sağlığı. Panel Kitabı Niğde, 2010; 94-105
55. Leroy JLMR, Opsomer G, Van Soom A, Goovaerts IGF, Bols PEJ. Reduced Fertility in Highyielding Dairy Cows: Are the Oocyte and Embryo in Danger? Part I – The importance of negative energy balance and altered corpus luteum function to the reduction of oocyte and embryo quality in high-yielding dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals* 2008a; 43 (5): 612–622
56. Ferguson JD. Nutrition and reproduction in dairy herds. *Veterinary Clinics of North Amerika: Food Animal Practice* 2005; 21 (2): 325–347
57. Garnsworthy PC, Sinclair KD, Webb R. Integration of physiological mechanisms that influence fertility in dairy cows. *Animal (An International Journal of Animal Bioscience)* 2 , 2008; 8 (2): 1144–1152
58. Korkmaz Ö, Küplülü Ş. Yüksek süt verimli ineklerde infertilite nedenleri. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2014; 3 (1): 49-54
59. Harrison RO, Ford SP, Young JW, Conley AJ, Freeman AE. Increased milk production versus reproductive and energy status of high producing dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1990; 73 (10): 2749–2758
60. Butler WR. Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 1998; 81 (9): 2533-2539
61. National Research Council (NRC). Nutrient requirements of dairy cattle. Seventh rev. Ed. National Academy Press, Washington, DC, 2001.
62. Chagas LM, Bass JJ, Blache D, et al. Invited review. New perspectives on the roles of nutrition and metabolic priorities in the subfertility of high-producing

- dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2007; 90 (9): 4022-4032
63. Alçiçek A. Süt sığırlarında beslemenin üreme performansına etkileri. *Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Yayınları* 2006; 122:91-101
  64. Sangsritavong S, Combs DK, Sartori R, Armentano LE, Wiltbank MC. High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17 $\beta$  in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 2002; 85 (11): 2831-2842
  65. Thatcher CD. Effects of nutrition and management of the dry and fresh cow on fertility. *Bovine Practitioner* 1986; 21:172-179
  66. Harris B.Jr. Energy intake and dairy cow fertility. University of Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agriculture Sciences, EDIS, 1992
  67. Wiltbank M, Lopez H, Sartori R, Gument A. Current management of positive and negative reproductive impacts of high energy intake. Four-State Dairy Nutrition Management Conference. MWPS-4SD18. Dubuque IA, 2005; 53-64
  68. Şen U, Gülboy Ö. Süt sığırlarında postpartum anöstrüs. *Hayvansal Üretim* 2014; 55 (2): 49-56
  69. Alaçam E. Evcil hayvanlarda doğum ve infertilite. Büyük ruminantlarda infertilite. Birinci Baskı, Medisan Yayınevi, Ankara, 1997; 269-294
  70. Robinson JJ, Ashworth CJ, Rooke JA, Mitchell, LM, McEvoy TG. Nutrition and fertility in ruminant livestock *Animal Feed Science and Technology* 2006; 126 (3): 259-276
  71. Roche JF. The effects of nutritional management of the dairy cow on reproductive efficiency. *Animal Reproduction Science* 2006; 96 (3):282-296
  72. Boland MP, Lonergan PO, Callaghan D. Effect of nutrition on endocrine parameters ovarian physiology, and embryodevelopment. *Theriogenology*, 2001; 55 (6): 1323-1340.
  73. Özdemir N, Denkbaş EB. Hayat veren yağlar: Omega yağları. *Bilim ve Teknik Dergisi*, 2003; 427: 78-80.
  74. Pryce JE, Royal MD, Garnsorthy PC, Mao IL. Fertility in the high-producing dairy cow. *Livestock Production Science* 2004;86 (1-3):125-135
  75. Alaçam E. İnekte infertilite sorunu. Evcil hayvanlarda doğum ve infertilite. 1. Baskı. Ankara: Medisan Yayınları, 2007: 267-90.
  76. Kruip TA, Kemp B. Nutrition and agricultural domestic animals. *Tijdschr*

Diergeneeskd 1999; 124 (16):462-467.

77. Ergün Y, Erdoğan Z. Süt sığırlarında beslemenin fertilité üzerine etkisi- I: Enerji, Protein ve Fertilité İlişkisi. Bültendif Veteriner Dergisi Ekim sayısı 2001; 18: 9-12
78. Mulligan FJ, O'Grady L, Rice DA, Doherty ML. A herd health approach to dairy cow nutrition and production diseases of the transition cow. *Animal Reproduction Science* 2006; 96 (3):331–353
79. Beam SW, Butler WR. Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *Journal Reproduction and Fertility-Supplement* 1999; 54: 411-424
80. Lucy MC. Regulation of ovarian follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle. *Journal of Dairy Science* 2000; 83(7): 1635-1647
81. Jorritsma R, Wensing T, Kruip TAM, Vos PLAM, Noordhuizen JPTM. Metabolic changes in early lactation and impaired reproductive performance in dairy cows. *Veterinary Research* 2003; 34 (1): 11–26
82. Butler ST, Marr AL, Pelton SH, et al. Insulin restores GH responsiveness during lactation-induced negative energy balance in dairy cattle: effects on expression of IGF-I and GH receptor 1A. *Journal of Endocrinology* 2003; 176 (2): 205-17
83. Rhoads ML, Gilbert RO, Lucy MC, Butler WR. Effects of urea infusion on the uterine luminal environment of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2004; 87 (9): 2896-2901
84. Alaçam E, Tuncer ŞD, Salmanoğlu MR, et al. The effects of a nutritional unbalanced diet on some blood and postpartum fertility parameters in dairy cows. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 2008; 32 (2): 99-106
85. Ehrhardt RA, Slepatis RM, Siegal-Willott J, et al. Development of a specific radioimmunoassay to measure physiological cahnges of circulating leptin in cattle and sheep. *Journal of Endocrinol* 2000; 166 (3):519-528
86. Thatcher WW, Santos JEP, Silvestre FT, Kim IH, Staples CR. Perspective on Physiological/Endocrine and Nutritional Factors Influencing Fertility in Postpartum Dairy Cows. *Reproduction in Domestic Animals* 2010; 45 (s3): 2–14
87. Beam SW, Butler WR. Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biology Reproduction* 1997; 56 (1): 133-142

88. Radcliff RP, McCormack BL, Crooker BA, Lucy MC. Plasma hormones and expression of growth hormone receptor and insulinlike growth factor-I mRNA in hepatic tissue of periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2003; 86 (12): 3920-3926
89. Butler WR. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Animal Reproductions. Science* 2000; 60:449-457
90. Hayırlı A, Çolak A. Managerial and nutritional strategies during the dry and transition periods in dairy cattle: The effects on postpartum metabolic profile, health and fertility, *Turkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences* 2011; 2 (1): 1
91. Jolly PD, McDougall S, Fitzpatrick LA, Macmillan KL, Entwistle K. Physiological effects of undernutrition on postpartum anestrous in cows. *Journal of Reproduction and Fertility* 1995; 49:477-492
92. Hawkins RA, Biebuyck JF. Ketone bodies are selectively used by individual brain regions. *Science* 1979; 205 (4403): 325-327
93. Imakawa K, Day ML, Zalesky DD, et al. Effects of 17 beta-estradiol and diets varying in energy on secretion of luteinizing hormone in beef heifers. *Journal of Animal Science* 1987; 64(3):805-815
94. Rutter LM, Manns JG. Hypoglycemia alters pulsatile luteinizing hormone secretion in the postpartum beef cow. *Journal of Animal Science* 1987; 64 (2): 479-488
95. Butler WR, Smith RD. Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 1989; 72 (3): 767-783
96. Miyoshi S, Pate JL, Palmquist DL. Effects of propylene glycol drenching on energy balance, plasma glucose, plasma insulin, ovarian function and conception in dairy cows. *Animal Reproduction Science* 2001; 68 (1): 29-43
97. Villa-Godoy A, Hughes TL, Emery RS, Chapin LT, Fogwell RL. Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1988; 71 (4): 1063-1072
98. Wiltbank MC. Interaction of hormones and nutrition on reproductive efficiency of dairy cows. *Dairy Cattle Nutrition Workshop*, 11-12 Grantville PA 2009: 23-34.

99. Yaakub H, O'Callaghan D, Boland MP. Effect of roughage type and concentrate supplementation on follicle numbers and in vitro fertilisation and development of oocytes recovered from beef heifers. *Animal Reproduction Science* 1999; 55 (1): 1–12.
100. Wathes DC, Abayasekara DRE, Aitken RJ. Polyunsaturated fatty acids in male and female reproduction. *Biology of Reproduction* 2007; 77 (2): 190–201
101. Staples CR, Burke JM, Thatcher WW. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. *Journal of Dairy Science* 1998; 81 (3): 856–871
102. Adamiak SJ, Powell K, Rooke JA, Webb R, Sinclair KD. Body composition, dietary carbohydrates and fatty acids determine post-fertilisation development of bovine oocytes in vitro. *Reproduction* 2006; 131 (2): 247–258
103. Bilby TR, Jenkins T, Staples CR, Thatcher WW. Pregnancy, bovine somatotropin and dietary n-3 fatty acids in lactating dairy cows: III. Fatty acid distribution. *Journal of Dairy Science* 2006; 89 (9): 3386-3399
104. Kuran M, Onal G, Robinson JJ, et al. A dietary supplement of calcium soaps of fatty acids enhances luteal function in sheep. *Animal Science* 1999; 69 (2): 355-393
105. Williams GL, Stanko RL. Dietary fats as reproductive nutraceuticals in beef cattle. *Journal of Animal Science* 2000; 77: 1-12
106. Mattos R, Staples CR, Thatcher WW. Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants. *Reviews of Reproduction* 2000; 5 (1): 38-45
107. Hawkins DE, Niswender KD, Oss GM, et al. An increase in serum lipids increases luteal lipid content and alters the disappearance rate of progesterone in cows. *Journal of Animal Science* 1995; 73 (2): 541-545
108. Lucy MC, Staples CR, Mitchell FM, Thatcher WW. Energy balance and size and number of ovarian follicles detected by ultrasonography in early postpartum dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1991; 74 (2): 473-482
109. Lammoglia MA, Willard ST, Hallford DM, Randel RD. Effects of dietary fat on follicular development and circulating concentrations of lipids and insulin on follicular development and circulating concentrations of lipids, insulin, progesterone, estradiol  $17\beta$ -13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin  $F2\alpha$  and growth hormone in estrous cyclic Brahman cows. *Journal of Animal Science*

1997; 75 (6): 1591– 1600

110. Funston R, Filley S. Effects of fat supplementation on reproduction in beef cattle. In Proceedings of the Applied Reproductive Strategies IN Beef Cattle Workshop, 2002: 5-6.
111. Moallem U, Katz M, Lehrer H, Livshitz L, Yakoby S. Role of peripartum dietary propylene glycol or protected fats on metabolism and early postpartum ovarian follicles. *Journal of Dairy Science* 2007; 90 (3): 1243–1254
112. Lucy MC. Functional Differences in the Growth Hormone and Insulin-like Growth Factor Axis in Cattle and Pigs: implications for Post-partum Nutrition and Reproduction. *Reproduction in Domestic Animals* 2008; 43 (s2): 31–39
113. Sklan D, Kaim U, Moallem U, Folman Y. Effects of dietary calcium soaps of fatty acids on milk yield, body weight, reproductive hormones and fertility in first parity and older cows. *Journal of Dairy Science* 1994; 74: 1652-1660
114. Küplülü Ş, Vural MR, Canatan HE, Yazlık MO, Babaş A. Üremede Prostaglandin F2 Alfa ve Klinik Kullanımı. *Turkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences-Obstetrics and Gynecology-special Topics* 2015; 1 (2): 97-105
115. Thatcher WW, Stables CR, Danet-Desnoyers G. Maternal recognition of pregnancy. *Journal of Reproduction and Fertility* 1995; 49: 15-28
116. Grummer RR, Carroll DJ. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive-performance of dairy cattle. *Journal of Animal Science* 1991; 69 (9): 3838-3852
117. Graham JS, Franks RJ. Bonney In vivo and in vitro effects of gamma- linolenic acid and Eicosapentaenoic acid (C20:5, n-3) on prostaglandin production and arachidonic acid (C20:4, n-6) uptake by human endometrium. *Prost. Leukot. And Essential Fatty Acids* 1994; 50 (6): 321-329
118. Chassagne M, Bornouin J. Circulating PGF<sub>2</sub> $\alpha$  and nutritional parameters at parturition in dairy cows with and without retained placenta: relation to prepartum diet. *Theriogenology* 1992; 38 (3): 407-418
119. Cerri RLA, Bruno RGS, Chebel RC, et al. Effect of fat sources differing in fatty acid profile on fertilization rate and embryo quality in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2004; 87 (1): 297
120. Fouladi-Nashta AA, Gutierrez CG, Gong JG, et al. Impact of dietary fatty acids

- on oocyte quality and development in lactating dairy cows. *Biology of Reproduction* 2007; 77 (1): 9-17
121. Petit HV, Twagiramungu H. Milk production and composition, ovarian function and prostaglandin secretion of dairy cows fed omega-3 fats. *Journal of Dairy Science* 2002; 85 (4): 889-899
  122. Wichtel JJ, Freeman DA, Craigie AL, Varela-Alvarez H, Williamson NB: Alpha tocopherol, selenium and polyunsaturated fatty acid concentrations in the serum and feed of spring calving dairy heifers. *New Zeland Veterinary Journal* 1996; 44 (1): 15-21
  123. Hidiroglou M. Trace element deficiencies and fertility in ruminants: A review. *Journal of Dairy Science* 1979; 62(8): 1195-1206
  124. Afiefy MM, Zaki K, Abul-Fadle W, Ayoub LA, Soliman FA. Iodine metabolism in relation to reproductive status in cows. *Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe* 1970; 17(1): 62-67
  125. Mc Dewell, L.R. Minerals in animal and human nutrition. Academic Press Limited, London, 1992: 26-330.
  126. Johns JT, Gay N, Aaron DK, Randolph JR, Wyles JW. The effect of chelated minerals and protein level in conditioning rations on gain of newly weaned calves. *Journal of Animal Science* 1991; 69 (1):25
  127. Britt JS. Update on the effect of nutrition on embryo transfer results. In AETA Meetings, 1996.
  128. Ergün A, Tuncer ŞD, Çolpan İ ve ark. Hayvan besleme ve beslenme hastalıkları. Medipress, Ankara, 2001
  129. Campbell MH, Miller JK. Effect of supplemental dietary vitamin E and Zinc on reproductive performance of dairy cows and heifers fed excess iron. *Journal of Dairy Science* 1998; 81 (10): 2693-2699
  130. Wang JY, Owen FG, Larson LL. Effect of beta-carotene supplementation on reproductive performance of lactating holstein cows. *Journal of Dairy Science* 1988; 71 (1): 181- 186
  131. Iwanska S, Strusinka D. The effect of beta-caroten and vitamins A, D3 and E on some reproductive parameters in cows. *Acta Veterinaria Hungarica* 1997; 45(1): 95-107
  132. Ganguly J, Rao MR, Murtby SK, Sarada K. Systemic mode of action of vitamin

A vitamims and hormones 1980; 38: 1-54

133. Do Amaral BC, De Souza JC, Bertechini AG, et al. Effect of different dosages of vitamin A injection on production and quality of cattle embryos. *Ciencia e Agrotecnologia* 2004; 28(3):662-667
134. Şenel S. Hayvan Besleme. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, İstanbul, 1996: 380s
135. Hurley WL, Doane RM. Recent developments in the roles of vitamins and minerals in reproduction. *Journal of Dairy Science* 1989; 72 (3): 784-804
136. Arechiga CF, Vazquez-Flores S, Ortiz O, et al. Effect of injection of  $\beta$ - carotene or vitamin E and selenium on fertility of lactating dairy cows. *Therigenology* 1998; 50 (1): 65-76
137. Weiss WP. Requirements of fat-soluble vitamins for dairy cows: A Review. *Journal of Dairy Science* 1998: 81 (9):2493-2501
138. Graves-Hoagland RL, Hoagland TA, Woody CO. Relationship of plasma  $\beta$ -carotene and vitamin A to postpartum cattle. *Journal of Dairy Science* 1989; 72 (7): 1854-1858
139. Arıkan Ş, Rodway RG. Seasonal variation in bovine luteal concentrations of  $\beta$ -carotene. *Türkish Journal of Veterinary Animal Sciences* 2001: 25 (2): 165-168
140. Jackson PS, Furr BJA, Johnson CT. Endocrine and ovarian changes in dairy cattle fed a low  $\beta$ -carotene diet during an estrus synchronization regime. *Research in Veterinary Science* 1981: 31 (3):377-383
141. Weng BC, Chew SD, Wong TS, et al.  $\beta$ -carotene uptake and changes in ovarian steroids and uterine proteins during the estrus cycle in the canine. *Journal of Animal Science* 2000; 78 (5): 1284-1290
142. Ikeda S, Kitagawa M, Hiroshi Imai H, Yamada M. The roles of vitamin a for cytoplasmic maturation of bovine oocytes. *Journal of Reproduction and Development*, 2005; 51 (1): 23-35.
143. Gossen N, Feldmann M, Hoedemaker M. Effect of parenteral supplementation with beta-carotene in the form of an injection solution (Caeofertin) on the fertility performance of dairy cows. *DTW. Deutsche tierärztliche Wochenschrift* 2004; 111 (1):14-21
144. Robinson JJ. Nutrition and reproduction. *Animal Reproduction Science* 1996;. 42(1): 25-34



145. Chew BP, Park JS, Weng BC, Kim HW, et al. Dietary  $\beta$ -carotene absorption by blood plasma and leukocytes in domestic cats. *The Journal of Nutrition* 2000; 130 (9): 2322-2325
146. Berger LL. Effective copper nutrition for farm animals. Salt Institute University of Illinois, USA, 1993.
147. Harrison JH, Hancock DD, Conrad HR. Vitamin e and selenium for reproduction of the dairy cow. *Journal of Dairy Science* 1984; 67(1):123-132
148. Hogan JS, Weiss WP, Smith KL. Role of vitamin E and selenium in host defence against mastitis. *Journal of Dairy Science* 1993; 76 (9):2795–2803
149. Zintzen H. Summary of vitamin E/selenium problem in ruminants. *News and Reviews Roche*, 1978:1-18
150. Dowel LRM. Vitamins in animal nutrition; comparative aspects to human nutrition. Academic Press limited, London 1989: 486
151. Brzezinska-Slebodzinska E, Miller JK, Quigley JD, Moore R. Antioxidant status of dairy cows supplemented prepartum with vitamin e and selenium. *Journal of Dairy Science* 1994; 77 (10): 3087-3095
152. Carlson JC, Wu XM, Sawada M. Oxygen radicals and the control of ovarian corpus luteum function. *Free Radical Biology and Medicine* 1993; 14 (1): 79- 84
153. Fujitani Y, Kasai K, Ohtani S, et al. Effect of oxygen concentration and free radicals on in vitro development of in vitro- produced bovine embryos. *Journal Animal Science* 1997; 75 (2): 483-489
154. Robinson JJ. Nutrition in the reproduction of farm animals. *Nutrition Research Reviews* 1990; 3 (1): 253-276
155. Bourne N, Laven R, Wathes DC, Martinez T, McGovan M. A meta analysis of the effects of Vitamin E supplementation on the incidence of retained foetal membranes in dairy cow *Theriogenology* 2007; 67 (3):494-501
156. Harris B. Vitamins, Minerals and Dair Cow Fertility. Universty of Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agriculture Sciences 1992: 915.
157. Reinhardt TA, Horst RL, Goff JP. Calcium, phosphorus, and magnesium

- homeostasis in ruminants. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice* 1988; 4(2): 331-350
158. Horst RL, Goff JP, Reinhardt TA. Calcium and vitamin D metabolism in the dairy cow. *Journal of Dairy Science* 1994; 77 (7):1936-1951
159. Ward G, Marion GB, Campbell CW, Dunham JR. Influences of calcium intake and vitamin D supplementation on reproductive performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1971; 54 (2):204-206
160. Shemesh M, Hansel W, Strauss JF. Calcium-dependent, cyclic nucleotide-independent steroidogenesis in the bovine placenta. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1984; 81(20):6403-6407
161. Amaral-Phillips DA, Heersche Jr G. Role of nutrition on reproductive performance. *University of Kentucky Cooperative Extension Service* 1997; 138
162. Risco CA, Reynolds JP, Hird D. Uterine prolapse and hypocalcemia in dairy cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1984; 185 (12): 1517-1519
163. Ergün A. Hayvan besleme ve beslenme hastalıkları. Mineral elementler. 2 baskı, Ankara, 2004; 123-145.
164. Wise T. Biochemical analysis of bovine follicular fluid: albumin, total protein, lysosomal enzymes, ions, steroids and ascorbic acid content in relation to follicular size, rank, atresis classification and day of oestrous cycle. *Journal of Animal Science* 1987; 64 (4): 1153-1169
165. Guo K, Russek-Cohen E, Varner MA, Kohn AR. Effects of milk urea nitrogen and other factors on probability of conception of dairy cows. *Journal of Animal Science* 2004; 87 (6): 1878-1985
166. Rhoads ML, Rhoads RP, Gilbert RO, Toole R, Butler WR. Detrimental effects of high plasma urea nitrogen levels on viability of embryos from lactating dairy cows. *Animal Reproduction Science* 2006; 91 (1):1-10
167. Curtis CR, Erb HN, Sniffen CJ, Smith RD, Kronfeld DS. Path analysis of dry period nutrition, postpartum metabolism and reproductive disorders, and mastitis in Holstein cows. *Journal of Animal Science* 1985; 68(9): 2347-2360
168. Hibbitt KG, Cole DJA. Effect of protein on the health of dairy cows. (in) *Recent Developments in Ruminant Nutrition 2*. Ed: Haresign, W. ve Cole, D.J.A. Page

- Bros. Ltd., Norwich, England, 1998; 184-196.
169. Grings EE, Roffler RE, Deitelhoff DP. Response of dairy cows in early lactation to additions of cottonseed meal in alfalfa-based diets. *Journal of Animal Science* 1991; 74 (8): 2580-2587
  170. Tamminga, S. The effect of the supply of rumen degradable protein and metabolisable protein on negative energy balance and fertility in dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 2006; 96 (3):227-239.
  171. Brzoska F, Ostrowski R, Daczewska M, Brzoska B, Zyzak W. Effect of outlet drier temperature on dried forage nutritive value and nutrient utilization by ruminants. *Roczniki Naukowe Zootechniki (Poland)*, 1992;19 (2): 189-199
  172. Deniz O, Çalışlar S, Serbester U. Kuzu besi rasyonlarında pamuk tohumu küspesi yerine değişik düzeylerde üre kullanılmasının besi performansı ve bazı kan metabolitleri üzerine etkisi, III.Ulusal Zootekni Bilim Kongresi, Bildiriler ve Poster Özetleri , s 151, 14- 16 Ekim 2002, Ankara
  173. Staples CR, Thatcher WW. Nutrient influences on reproduction of dairy cows. *Mid-South Ruminant Nutrition Conference University of Florida Animal Sciences Department* s 15, 2001, Dallas Texas USA
  174. Ferguson JD, Chalupa W. Impact of protein nutrition on reproduction in dairy cows *Journal of Dairy Science* 1989; 72 (3): 746-766
  175. Hayirli A, Grummer RR, Nordheim EV, Crump PM. Animal and dietary factors affecting feed intake during the prefresh transition period in Holsteins. *Journal of Dairy Science* 2002; 85 (12): 3430–3443
  176. De Wit AAC, Cesar MLF, Kruip TAM. Effect of urea during in vitro maturation on nuclear maturation and embryo development of bovine cumulus-oocyte-complexes. *Journal of Dairy Science* 2001; 84 (8):1800-1804
  177. Armstrong DG, Mcevoy TG, Baxter G, et al. Effect of dietary energy and protein on bovine follicular dynamics and embryo production in vitro: associations with the ovarian insulin- like growth factor system. *Biology Reproduction* 2001; 64 (6):1624-1632
  178. Van Eys J. Benefits of nutritional intervention on nutritional status, quality of life and survival. *International Journal of Cancer* 1998; 78 (11): 66-68
  179. Jordan ER, Swanson LV. Serum progesterone and luteinizing hormone in dairy cattle fed varying levels of crude protein. *Journal of Animal Science* 1979; 48

- (5): 1154–1158
180. Folman Y, Rosenberg M, Herz Z, Davison M. The relationship between plasma progesterone concentration and conception in post-partum dairy cows maintained on two levels of nutrition. *Journal of Reproduction and Fertility* 1973; 34 (2): 267- 278
  181. Kaim, M, Folman Y, Neumark H. and Kaufmann W. The effect of protein intake and lactation number on postpartum body weight loss and reproductive performance of dairy cows. *Animal Production* 1983; 37 (2):229-235
  182. Howard HJ, Aalseth EP, Adams GD, et al. Influence of dietary protein on reproductive performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1987; 70 (8): 1563-1571
  183. Carroll DJ, Barton BA, Anderson GW, Smith RD. Influence of protein intake and feeding strategy on reproductive performance of dairy cows 1,2. *Journal of Dairy Science* 1988; 71 (12): 3470-3481
  184. Bruckental I, Drori D, Kaim M, Lehrer H, Folman Y. Effects of source and level of protein on milk yield and reproductive performance of high-producing primiparous and multiparous dairy cows. *Animal Production* 1989; 48 (02): 319-329
  185. Canfield RW, Sniffen CJ, Butler WR. Effects of excess degradable protein on postpartum reproduction and energy balance in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 1990; 73 (9): 2342-2349
  186. Elrod CC, Butler WR: Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein. *Journal of Animal Science* 1993; 71 (3): 694– 701
  187. Barton BA, Rosario HA, Anderson GW, Grindle BP, Carroll DJ: Effects of dietary crude protein, breed, parity and health status on the fertility of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1996; 79 (12):2225–2236
  188. Jordan ER, Chapman TE, Holtan DW, Swanson LV. Relationship of dietary crude protein to composition of uterine secretions and blood in high-production postpartum dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1983; 66 (9): 1854-1862
  189. Coşkun B, Şeker E, İnal F. Hayvan Besleme Ders Notları. Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Yayın Ünitesi, Konya, 1997.
  190. Gustafsson AH, Carlsson J. Effect of silage quality, protein evaluation systems

- and milk urea content on milk yield and reproduction in dairy cows. *Livestock Production Science* 1993; 37 (1):91-105
191. Visek WJ. Ammonia: Its effects on biological systems, metabolic hormones and reproduction. *Journal of Dairy Science* 1984; 67(3): 481-498
  192. Staples CR, Garcia-Bojalil CM, Oldick BS, Thatcher WW, Risco CA. Protein intake and reproductive performance of dairy cows. A review, a suggested mechanism, and blood and milk urea measurements. In *Proceedings of the 4th Annual Florida Ruminant Nutrition Symp.* Gainesville, 1993; 4: 37-51 Florida University, Florida
  193. Garcia-Bojalil CM, Stables CR, Risco CA, Savio JD, Thatcher WW. Protein degradability and calcium salt of long-chain fatty acids in diets of lactating dairy cows: reproductive responses. *Journal of Dairy Science* 1998; 81 (5): 1374- 1384
  194. Sonderman JP, Larson LL. Effect of dietary protein and exogenous gonadotropin-releasing hormone on circulating progesterone concentrations and performance of Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 1989; 72 (8): 2179-2183
  195. Slama H, Vaillancourt D, Goff AK. Pathophysiology of the puerperal period: relationship between prostaglandin E2 and uterine involution in the cow. *Theriogenology* 1991; 36(6):1071-1090
  196. Guthrie LD, West JW. Nutrition and reproduction interactions in dairy cattle. *Bulletin The University of Georgia College of Agricultural e Environment Science Cooperative Extension Service*, 2008.
  197. Shaver RD, Howard WT. Feeding dairy cows foe efficient reproductive performance *University of Wisconsin--Extension*, 1989: 1-6
  198. Looney CR: Donor nutrition. *Ovagenix*, LP College, 2005.
  199. Petit HV, Cavalieri FB, Santos GTD, Morgan J, Sharpe P. Quality of embryos from dairy cows fed whole flaxseed and the success of embryo transfer. *Journal of Dairy Science* 2008; 91 (5): 1786-1790
  200. Yavuz HM. Süt sığırlarında beslemenin döl verimi üzerine etkileri. *Çiftlik hayvanlarının beslemesinde temel prensipler ve karma yem üretiminde bazı bilimsel yaklaşımlar*, İstanbul, 2001: 221–224.
  201. Garcia-Bojalil CM, Staples CR, Thatcher WW, Drost M. Protein intake and development of ovarian follicles and embryos of superovulated nonlactating

- dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1994; 77 (9): 2537–2548
202. Rhoads ML, Rhoads RP, Gilbert RO, Toole R, Butler WR. Detrimental effects of high plasma urea nitrogen levels on viability of embryos from lactating dairy cows. *Animal Reproduction Science* 2006; 91 (1): 1–10
  203. Blanchard T, Ferguson J, Love L, et al. Effect of dietary crude protein type on fertilization and embryo quality in dairy cattle. *American journal of veterinary research* 1990; 51 (6): 905–908
  204. Bequette BJ, Backwell FRC, Crompton LA. Current concepts of amino acid and protein metabolism in the mammary gland of the lactating ruminant. *Journal of Dairy Science* 1998; 81 (9):2540-2559
  205. Sloan B. Amino acid feeding concepts. *International Dairy Topics* 2002; 5 (6): 11-14
  206. Davidson S. Supplementation of rumen-protected forms of methionine, betaine and choline to early lactation Holstein cows. Graduate Faculty of North Carolina State University, 2006: 98
  207. Clark JH, Klusmeyer TH, Cameron MR. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1992; 75 (8): 2304-2323
  208. Mantysaari PE, Sniffen CJ, Muscato TV, Lynch JM, Barbano DM. Performance of cows in early lactation fed isonitrogenous diets containing soybean-meal or animal by-product meals. *Journal of Dairy Science* 1989; 72 (11):2958-2967
  209. Jacobson DR, Van Horn HH, Sniffen CJ. Lactating ruminants. In *Federation Proceedings* 1970; 29 (1): 35-40
  210. Foroughi AR, Naserian AA, Valizadeh R, Danesh Mesgaran M. Effect of ruminally protected amino acids on milk nitrogen fractions of Holstein dairy cows fed processed cottonseed. In: *Canadian Journal Of Animal Science*. 280 Albert St, Suite 900, Ottawa, Ontario K1P 5G8, Canada: Agricultural Institute Canada, 2006: 589.
  211. Waterman RC, Loest CA, Bryant WD, Petersen MK. Supplemental methionine and urea for gestating beef cows consuming low quality forage diets. *Journal of Animal Science* 2007; 85 (3):731–736
  212. Alonso M, Maquivar M, Galina CS, et al. Effect of ruminally protected methionine on the productive and reproductive performance of grazing Bos

- indicus heifers raised in the humid tropics of Costa Rica. *Tropical Animal Health And Production* 2008; 40 (8): 667-672
- 213.** Ardalan M, Rezayazdi K, Dehghan-Banadaky M. Investigation on the effect of supplementing rumen-protected forms of methionine and choline on health situation and reproductive performance of Holstein dairy cows. *Pakistan Journal of Biology Science* 2009; 1 (12): 69–73
- 214.** Wright TC, Moscardini S, Luimes PH, Susmel P, McBride BW. Effects of rumen-undegradable protein and feed intake on nitrogen balance and milk protein production in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1998; 81 (3): 784-793
- 215.** Illg DJ, Sommerfeldt JL, Schingoethe DJ. Lactational and systemic responses of high producing dairy cows to the addition of protected methionine in soybean meal diets. *Journal of Dairy Science* 1987; 70 (8):620-629
- 216.** Schingoethe DJ, Casper DP, Yang CM, et al. Ruminally protected methionine with soybean meal, heat-treated soybean meal, and extruded blend of soybeans and soybean meal for lactating cows. *Journal of Dairy Science* 1986; 69 (1): 111
- 217.** Overton TR, Emmert LS, Clark JH. Effects of sources of carbohydrate and protein and rumen-protected methionin on performance of cows. *Journal of Dairy Science* 1998; 81 (1):221-228
- 218.** Sancanari JBD, Ezequiel JMB, Galati RL, et al. Effect of rumen protected and nonprotected methionine on milk production and composition of dairy holstein cows. *Revista Brasileira de Zootecnia* 2001; 30(1):286-294
- 219.** Yang CMJ, Schingoethe DJ, Casper DF. Protected methionine and heat-treated soybean meal for high-producing dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1986; 69 (9): 2348-2357
- 220.** Casper DP, Schingoethe DJ, Yang CMJ, Mueller CR. Protected methionine supplementation with extruded blend of soybeans and soybean meal for dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1987; 70 (2): 321-330
- 221.** Papas A, Sniffen CJ, Muscato TV. Effectiveness of rumen-protected methionine for delivering methionine postruminally in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1984; 67 (3): 545-552
- 222.** Bauchart D, Durand D, Gruffat D, Chilliard Y. Mechanism of liver steatosis in

- early lactation cows: effects of hepatoprotector agents. In: Proceedings of 60th Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers, Cornell University 1998; 27-37
- 223.** Bertics SJ, Grummer RR. Effects of fat and methionine hydroxy analog on prevention or alleviation of fatty liver induced by feed restriction. *Journal of Dairy Science* 1998; 82 (12):2731-2736
- 224.** Brusemeister F, Südekum KH. Rumen-protected choline for dairy cows. the in situ evaluation of a commercial source and literature evaluation of effects on performance and interactions between methionine and choline metabolism. *Animal Research* 2006; 55 (2):93-104
- 225.** Bobe G, Young JW, Beitz DC. Invited review: Pathology, etiology, prevention and treatment of Fatty liver in cows. *Journal of Dairy Science* 2004; 87 (10): 3105- 3124
- 226.** Strzetelski JA, Kowalski ZM, Kowalczyk J, et al. Protected methionine as a methyl-group donor for dairy cows fed diets with different starch sources in the transition period. *Journal of Animal and Feed Sciences* 2009; 18:28–41
- 227.** Pisulewski PM, Kowalski ZM, Gorgulu M. Lactational responses to ruminally-protected methionine in cows fed a low-protein grass silage-based diet. *Journal of Animal Feed Science* 2002; 11 (2):189-203
- 228.** Rulquin H, Graulet B, Delaby L, Robert JC. Effect of different forms of methionine on lactational performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2006; 89 (11): 4387-4394
- 229.** Girard CL, Lapierre H, Matte JJ, Lobley GE. Effects of dietary supplements of folic acid and rumen-protected methionine on lactational performance and folate metabolism of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2005; 88 (2): 660–670
- 230.** Gao Y, Jianguo LI, Wenbin JIA, Qiufeng LI, Yufeng Cao. Response of lactating cows to supplemental rumen protected methionine and niacin. *Frontiers of Agriculture in China* 2008; 2(1): 121–124
- 231.** Třinacty J, Křížova L, Richter M, Černý V, Řiha J. Effect of rumen-protected methionine, lysine or both on milk production and plasma amino acids of high-yielding dairy cows. *Czech Journal of Animal Science* 2009; 54 (6):239–248
- 232.** Toledo MZ, Baez GM, Garcia-Guerra A, et al. Effect of supplementation with



- rumen protected methionine on reproduction in lactating dairy cows dairy science Showcase 2015
233. Bazer, Fuller W, et al. Arginine Stimulates Migration of Ovine Trophectoderm Cells Through the MTOR-RPS6-RPS6K Signaling Cascade and Synthesis of Nitric Oxide, Polyamines, and Interferon Tau. *Biology of Reproduction* 2010; 83 (1): 120
  234. Penã agaricano F, Souza AH, Paulo D. Carvalho PD, et al. Effect of maternal methionine supplementation on the transcriptome of bovine preimplantation embryos. *PloS one* 2013; 8 (8): e72302.
  235. Wiltbank MC. Garcia-Guerra A, Carvalho PD, et al. Effects of energy and protein nutrition in the dam on embryonic development. *Animal Reproduction* 2014, 11(3): 168-182
  236. Polan CE, Cummins KA, Sniffen CJ, et al. Responses of dairy cows to supplemental rumen-protected forms of methionine and lysine. *Journal of Dairy Science* 1991; 74 (9): 2997- 3013
  237. Coelho, Caroline ND, Norman W. Klein. Methionine and neural tube closure in cultured rat embryos: morphological and biochemical analyses. *Teratology* 1990; 42 (4): 437-451
  238. Lara A, Mendoza GD, Sánchez-Torres T, Hernández PA, Martínez JA. Response of LH and Progesterone in Postpartum Cows Added with Different Levels of Protected Methionine. *Life Science Journal* 2015; 12 (2s): 104-107
  239. Bonilla L, Luchini D, Devillard E, Hansen PJ. Methionine Requirements for the Preimplantation Bovine Embryo *Journal of Reproduction and Development* 2010; 56(5): 527-532
  240. Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 1991; 74 (10): 3583-3597
  241. Gök K. Türkiyede Embriyo Transferinin Önemi-2. *Tarım ve Teknik Dergisi Kayseri*, 2015; 2 (4): 56-59.
  242. Minitab Release 14, Statistical Software, Minitab Inc, USA 2004
  243. Dobson H, Smith RF, Royal MD, Knight CH, Sheldon IM. The high-producing dairy cow and its reproductive performance. *Reproduction In Domestic Animals* 2007; 42(2): 17-23

- 244.** Ben Salem M. Effects of calcium salts and protected methionine supplementation on the productive and reproductive performances of high producing dairy cows in early lactation. Book of Abstracts of the 57th Annual Meeting of the European Association for Animal Production 2006; 6: 17-20
- 245.** İzmirli M, Tufan T, Alptekin D. DNA metilasyonu. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi 2012; 21 (4)
- 246.** Dikmen M. Metilentetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) enziminin ooleküler biyolojisi ve hastalıklarla ilişkisi. Kocatepe Tıp Dergisi 2004; 5:2
- 247.** Souza AH, Carvalho PD, Dresch AR, et al. Effect of methionine supplementation during postpartum period in dairy cows II: embryo quality. Journal of Dairy Science 2012;:95
- 248.** Hızlı H, Ayaşan T, Kılıçalp N, ve ark. Verici inek ve düvelerde tekrarlı superovulasyonların embriyo kalitesi üzerine etkisi. YYÜ Veteriner Fakültesi Dergisi 2012; 23 (1): 11-14
- 249.** Hussein MM, Aziz RA, Abdel-Wahab A, El-Said H. Preliminary study of factors affecting the superovulatory response of high producing dairy cows super stimulate dregardless of thestage of estrouscycle in Egypt. Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences 2014; 3 (4):286-292
- 250.** Garcia-Bojaul CM, Staples CR, Thatcher WW, Drost M. Protein intake and development of ovarian follicles and embryos of superovulated non lactating dairy cows. Journal of Dairy Science 1994; 77 (9): 2537-2548
- 251.** Elrod CC, Butler WR. Reduction of fertility and alteration of uterinep Hin heifers fed excess ruminally degradable protein. Journal of Animal Science 1993; 71 (3): 694-701
- 252.** Novotny F, Lazar G, Valocky I, et al. Relation ship between milk production in donor cows and the yield and quality of embryos. Bullet Veterinary Institute Pulawy 2005; 49:303–305
- 253.** Yaakub H, Ó Callaghan D, Ó Doherty JV, Boland MP. Effect of dietary intake on follicle numbers and oocytomorphology in unsuperovulated and superovulate dewes. Theriogenology 1997; 47 (1):182-182
- 254.** Nebel RL, Mc-Gilliard ML. Interactions of high milk yield and reproductive performance in dairy cows. Journal of Dairy Science 1993; 76 (10): 3257– 3268

255. Ayaşan T, Asarkaya A, Hızlı H, Gök, K, ve ark. Siyah alaca ineklerde vücutkondisyon skorunun embriyo kalitesine etkisi. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 2012; 18 (1): 91-94
256. Albuquerque KP, Prado IND, Prado RMD, et al.. Superovulatory response, production and quality of embryos of cows fed on linse edorcanola seed supplemented diets. Acta Scientiarum. Animal Sciences 2012; 34 (3): 321-327
257. Maslev T, Alekseenko A, Gavrikov A, et al. Multiple superovulation of donor cows. Molochnoe i Myasnoe Skotovodstvo 1990; 3: 32-33
258. H Hızlı H, Ayaşan T, Gök K, Kara U, Kılıçalp N, Çamlıdağ A, Karakozak E, Seğmenoğlu MS, Mutlu H, Asarkaya A. Donör ineklerde yaş ile embriyo kalitesi arasındaki ilişkinin saptanması. Kafkas Univ Vet Fak Derg, 2011; 17 (3):493-497
259. Ikeda S, Sugimoto M, Kume S. Importance of methionine metabolism in morula-to-blastocyst transition in bovine preimplantation embryos. Journal of Reproductive and Development 2012; 58 (1): 91-97
260. Acosta DAV, Denicol AC, Skenendore C, et al. Effect of methionine supplementation on methylation and lipid accumulation of the preimplantation embryo in dairy cows. Journal of Dairy Science 2014: 97

**T.C.**  
**ERCIYES ÜNİVERSİTESİ**  
**HAYVAN DENEYLERİ YEREL KURUL BAŞKANLIĞI**  
**KAYSERİ-TÜRKİYE**

**ETİK KURULUN ADI:** Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

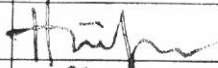






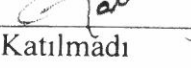
**ETİK KURULUN ADRESİ:** Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi (DEKAM)

**Tarih:** 15.01.2014

**Toplantı Sayısı:** 01

**Karar No:**14/002

Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu **15.01.2014** tarihinde **Prof. Dr. Harun ÜLGER**'in başkanlığında toplanmıştır.

Üye Adı/Soyadı	Ünvanı	Bölümü	İmza
Harun ÜLGER	Prof. Dr.	Tıp Fak.	
Abdullah İNCİ	Prof. Dr.	Veteriner Fak.	
Özlem CANÖZ	Prof. Dr.	Tıp Fak.	Katılmadı
Fusun Ferda ERDOĞAN	Prof. Dr.	Tıp Fak.	
Coşkun TEZ	Prof. Dr.	Fen Fak.	
Betül AYCAN	Doç. Dr.	Eczacılık Fak.	Katılmadı
Ahmet ÖZTÜRK	Doç. Dr.	Tıp Fak.	
Gökçen Yuvalı ÇELİK	Doç. Dr.	Eczacılık Fak.	
Servet KESİM	Yrd. Doç. Dr.	Diş Hekimliği Fak.	
Gökçen DİNÇ	. Dr.	DEKAM	
Serap ALTUNDAŞ EROĞLU	Av.	Kurumla İlişkisi Olmayan Üye	Katılmadı
Asiye GÖKBELEN	Yardım Sevenler Der. Başk.	Sivil Toplum Kuruluşu Temsilcisi	Katılmadı

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesinden **Prof. Dr. Berrin KOCAOĞLU GÜÇLÜ** tarafından sunulan “DONÖR İNEKLERİN BESLENMESİNDE KORUNMUŞ METİONİN KULLANILMASININ EMBRİYO KALİTESİNE ETKİSİ” adlı araştırma projesi incelenerek çalışmanın yapılmasının uygun olacağına ve Rektörlük makamına sunulmasına oybirliğiyle karar verildi

**Tarih** : 15.01.2014

**Etik kurul Başkanı** : Prof. Dr. Harun ÜLGER

**İmzası**



# ÖZGEÇMİŞ

## KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Kurtuluş GÖK

Uyruğu: Türkiye (TC)

Doğum Tarihi Yeri: 1 Haziran 1973, Kaman

Medeni Durumu: Evli

Tel: 05055515462

Email: [kurtulusgok@hotmail.com](mailto:kurtulusgok@hotmail.com)

Yazışma Adresi: Gıda, Tarım ve Hayvancılık İl Müdürlüğü

Kocasinan/KAYSERİ

## EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Y.Lisans	100. Yıl Üniversitesi	1995
Lise	Kaman Lisesi	1990

## İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2014- Halen	Gıda, Tarım ve Hayvancılık İl Müdürlüğü, Kayseri	Veteriner Hekimi
2002 -2014	Doğu Akdeniz Tarımsal Araş.Ens.Müd., Adana	Veteriner Hekimi
1998 - 2002	Gıda, Tarım ve Hayvancılık İlçe Müdürlüğü, Erçiş	Veteriner Hekimi

## YABANCI DİL

İngilizce

## YAYINLAR

- 1) Ayaşan T, Hızlı H, Çamlıdağ A, Kara U, Gök K, Karakozak E, Çoban S, Mutlu H, Kılıçalp N, Seğmenoğlu MS. The determination of relationship between milk production and the quality of embryo of donör cows. *Indian J Anim Sci*, 2012; 81 (9): 912-914. **SCI**
- 2) Hızlı H, Ayaşan T, Gök K, Kara U, Kılıçalp N, Çamlıdağ A, Karakozak E, Seğmenoğlu MS, Mutlu H, Asarkaya A. Donör ineklerde yaş ile embriyo kalitesi arasındaki ilişkinin saptanması. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 2011; 17(3):493-497.
- 3) Kara U, Ayaşan T, Hızlı H, Gök K.. Ovsynch protokolünün inek ve düvelerin gebelik oranı üzerine etkisi. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2011; 8 (1): 1-8
- 4) Ayaşan T, Hızlı H, Yazgan E, Kara U, Gök K.. Somatik Hücre Sayısının Süt Üre Nitrojen ile Süt Kompozisyonuna Olan Etkisi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 2011; 17 (4): 659-662. **SCI**
- 5) Ayaşan T, Hızlı H, Gök K, Kılıçalp N, Kara U, Çamlıdağ A, Karakozak E, Mutlu H, Çoban S, Seğmenoğlu MS. Donör İneklerde Mevsimin Embriyo Kalitesi Üzerine Etkisi, *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2011; 8(3):181-186.
- 6) Ayaşan T, Asarkaya A, Hızlı H, Gök, K, Tekgül A, Karakozak E, Kara U, Seğmenoğlu MS, Çoban S, Mutlu H, Kılıçalp N. Siyah alaca ineklerde vücut kondisyon skorunun embriyo kalitesine etkisi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 2012; 18 (1): 91-94. **SCI**.
- 7) Hızlı H, Ayaşan T, Kılıçalp N, Kara U, Karakozak E, Özcan BD, Gök K, Çamlıdağ A, Çoban S, Mutlu, H., Seğmenoğlu MS. Verici İnek ve Düvelerde Tekrarlı Ovulasyonların Embriyo Kalitesi Üzerine Etkisi. *YYÜ Vet Fak Derg*, 2012; 23 (1): 11-14.
- 8) Ayaşan T, Gök K., Asarkaya A, Hızlı H, Görgülü M, Karakozak E, Coşkun MA, Seğmenoğlu MS. Mısır Silajı ve Şeker Pancarı Posasının Erkek Danaların Besi Performansı, Kan Parametresi ile Kesim Ölçütleri Üzerine Etkisi, *SDÜ Zir Fak Dergisi*, 2012; 7(1):64-73.
- 9) Gök K, Ayaşan T, Tekgül A, Hızlı H, Karakozak E, Kara U, Çoban S, Mutlu H, Seğmenoğlu MS. Somatik Hücre Sayısının Verici İneklerde Embriyo

Kalitesine Etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 2012; 7(2):49-55.

- 10) Bülbül B, Gök K, Kızıl Sh, Kırbaş M, Çamlıdağ A, Satılmış M, Köse M, Seğmenoğlu MS, Karaşahin T, Akbulut NK, Kara U, Teke BM, Karakozak E. Siyah alaca ineklerde farklı oranlarda lh içeren iki fsh preparatına verilen süperovulasyon cevabının karşılaştırılması. V. Ulusal Reprodüksiyon ve Suni Tohumlama Kongresi, 2009: 1 – 4 Ekim 2009 ELAZIĞ, syf:108.
- 11) Kızıl SH, Akyol N, Karaşahin T, Satılmış M, Gök K. Investigation of pregnancy rates obtained from vitrified holstein embryos. Reproduction in Domestic Animals., The 15th Annual Conference of the European Society for Domestic Animal Reproduction (ESDAR) Antalya-TURKEY. 15-17 September 2011. Page 118

#### ÇALIŞTIĞI PROJELER

- a- Anadolu Alacasını Geliştirme Projesi (Multiple Oozing Embriyo Transfer)
- b- Prostaglandinlerle Östrus Senkronizasyonu Yapılmış Siklusları Düzensiz, Embriyo Transferi Uygulamalarından Gebe Kalmayan Düvelerde  $\beta$ - karoten, Cu +B<sub>12</sub> Vitamini ve Se+E vitaminin Reprodüktif Performans Üzerine Etkisi