

**T.C.**  
**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**REPRODÜKSİYON VE SUNİ TOHURLAMA (VETERİNER)**  
**DOKTORA PROGRAMI**

**ORGANİK SELENYUM İLE DESTEKLENEN RASYONLARIN**  
**SÜT İNEKLERİNDE KIŞ VE YAZ MEVSİMLERİNDE BAZI**  
**BİYOKİMYASAL KAN DEĞERLERİ VE GEBELİK**  
**ORANLARI ÜZERİNE ETKİSİ**

**CAN KIZANLIK**  
**DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**Prof. Dr. İlker SERİN**

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-14015 proje numarası ile desteklenmiştir

**AYDIN-2019**

## KABUL ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Reprodüksiyon ve Suni Tohumlama (Veteriner) Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Can KIZANLIK tarafından hazırlanan “Organik Selenyum ile Desteklenen Rasyonların Süt İneklerinde Kış ve Yaz Mevsimlerinde Bazı Biyokimyasal Kan Değerleri ve Gebelik Oranları Üzerine Etkisi” başlıklı tez aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 09/09/2019

Üye (T. D.):Prof. Dr. İlker SERİN

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi



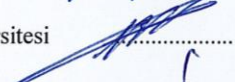
Üye: Prof. Dr. Melih AKSOY

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi



Üye: Prof. Dr. Hakkı  
Bülent BECERİKLİSOY

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi



Üye: Doç. Dr. Deniz YENİ

Afyon Kocatepe Üniversitesi



Üye: Doç. Dr. Fatih AVDATEK

Afyon Kocatepe Üniversitesi



ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün .....tarih ve .....sayılı oturumunda alınan .....nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Cavit KUM  
Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca ve tezimin fikir aŐamasından sonuŐlanmasına kadar geÇen sÜreÇte destek olan danıŐmanım Sayın Prof. Dr. İlker SERİN'e, tez ŐalıŐmamın analizleri boyunca yardımcı olan Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Funda KIRAL ve ArŐ. Gör. Dr. Gamze Sevri EKREN AŐICI'ya, Zootekni Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. HÜsnÜ Erbay BARDAKŐIOđLU'na, Tıp FakÜltesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Őiđdem YENİSEY'e, ArŐ. Gör. BurŐin İrem ABAS'a ve Veteriner Hekim Hidayet YAMAN'a teŐekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her döneminde her zaman yanımda olan aileme ve doktora eğitimim süresince özveriyle destek veren eŐim ArŐ. Gör. Dr. Pelin KOŐAK KIZANLIK'a teŐekkürü bir borŐ bilirim.

# İÇİNDEKİLER

KABUL ONAY .....	i
TEŞEKKÜR .....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	vii
ÖZET .....	viii
ABSTRACT .....	x
1.GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. İz (Mikro) Mineraller.....	4
2.2. Selenyum .....	5
2.2.1. Selenyumun Metabolizmadaki Görevleri .....	6
2.2.2. Selenyumun Absorbsiyonu.....	8
2.2.3. Selenoproteinler.....	9
2.2.3.1. Glutasyon peroksidaz.....	10
2.2.4. Ruminantlarda Selenyum Gereksinimi.....	11
2.3. Serbest Radikaller.....	13
2.4. Oksidasyonun Biyokimyasal Mekanizması .....	15
2.5. Oksidatif Stres .....	16
2.5.1. Oksidatif Stresin Reprodüktif Sistem Üzerine Etkisi .....	17
2.6. Antioksidan Savunma Sistemi.....	19
2.7. Sıcak Stresi .....	22
2.7.1. Sıcak Stresinin Foliküler Gelişim Üzerine Etkisi.....	26
2.7.2. Sıcak Stresinin Gamet ve Embriyolar Üzerine Etkisi .....	27

3. GEREÇ ve YÖNTEM .....	28
3.1. Gereç.....	28
3.1.1. Beslenme Programı .....	29
3.1.2. Senkronizasyon Programı ve Suni Tohumlama .....	29
3.2. Yöntem .....	29
3.2.1. Biyokimyasal Analizler .....	29
3.2.1.1. Plazma malondialdehit (MDA) düzeyinin belirlenmesi .....	30
3.2.1.2. Eritrosit hemolizatlarının hazırlanması .....	31
3.2.1.3. Eritrosit hemolizatlarında hemogloblin düzeyinin belirlenmesi.....	31
3.2.1.4. Eritrosit hemolizatlarında glutatyon (GSH) düzeyinin belirlenmesi.....	32
3.2.1.5. Eritrosit hemolizatlarında glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesinin belirlenmesi.....	32
3.2.2. Gebeliklerin Kontrolü.....	33
3.2.3. İstatistiksel Analizler .....	33
4. BULGULAR .....	35
4.1. Plazma MDA Düzeyleri .....	35
4.2. GSH Düzeyleri .....	37
4.3. GSH-Px Düzeyleri.....	39
4.4. MDA, GSH ve GSH-Px Düzeylerindeki Mevsimsel Farklılıkların Karşılaştırılması.....	41
4.5. Gebelik Oranları .....	43
5. TARTIŞMA.....	44
6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	52
KAYNAKLAR.....	54
ÖZGEÇMİŞ.....	69

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>ATP</b>	: Adenozin Trifosfat
<b>CAT</b>	: Katalaz
<b>CYP-450</b>	: Sitokrom P450
<b>DNA</b>	: Deoksiribo Nükleik Asit
<b>FDA</b>	: US Food and Drug Administration (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi)
<b>FSH</b>	: Folikül Stimulan Hormon (Follicle Stimulating Hormone)
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen Peroksit
<b>Hb</b>	: Hemoglobin
<b>GnRH</b>	: Gonadotropin Salgılatıcı Hormon (Gonadotropin-Releasing Hormone)
<b>GSH</b>	: Glutasyon
<b>GSH-Px</b>	: Glutasyon Peroksidaz
<b>KM</b>	: Kuru Madde
<b>LH</b>	: Luteinizan Hormon (Luteinizing Hormone)
<b>MDA</b>	: Malondialdehit
<b>Na</b>	: Sodyum
<b>NADPH</b>	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
<b>PGF<sub>2α</sub></b>	: Prostaglandin F <sub>2α</sub>
<b>RNA</b>	: Ribonükleik Asit
<b>ROS</b>	: Reaktif Oksijen Türleri (Reactive Oxygen Species)
<b>Se</b>	: Selenyum
<b>SeCys</b>	: Selenosistein
<b>SeMet</b>	: Selenometiyonin
<b>SNİ</b>	: Sıcaklık-Nem İndeksi
<b>SOD</b>	: Süperoksit Dismutaz

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Yaz döneminde MDA değişimleri. ....	36
Şekil 2. Kış döneminde MDA değişimleri. ....	36
Şekil 3. Yaz döneminde GSH değişimleri. ....	37
Şekil 4. Kış döneminde GSH değişimleri. ....	38
Şekil 5. Yaz döneminde GSH-Px değişimleri. ....	40
Şekil 6. Kış döneminde GSH-Px değişimleri. ....	41



## TABLÖLAR DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b> Selenoproteinlerin metabolizmadaki fonksiyonları.....	10
<b>Tablo 2.</b> Çiftlik hayvanlarında Se ihtiyacı ve maksimum tolere edilebilir Se miktarları. ....	13
<b>Tablo 3.</b> Reaktif oksijen türleri .....	14
<b>Tablo 4.</b> Yaz döneminde MDA düzeyleri.....	35
<b>Tablo 5.</b> Kış döneminde MDA düzeyleri.....	36
<b>Tablo 6.</b> Yaz döneminde GSH düzeyleri .....	37
<b>Tablo 7.</b> Kış döneminde GSH düzeyleri .....	38
<b>Tablo 8.</b> Yaz döneminde GSH-Px düzeyleri.....	39
<b>Tablo 9.</b> Kış döneminde GSH-Px düzeyleri .....	40
<b>Tablo 10.</b> Yaz ve kış dönemlerinde ortalama MDA düzeyleri .....	42
<b>Tablo 11.</b> Yaz ve kış dönemlerinde ortalama GSH düzeyleri .....	42
<b>Tablo 12.</b> Yaz ve kış dönemlerinde 40. gün ortalama GSH-Px düzeyleri .....	43
<b>Tablo 13.</b> Yaz ve kış dönemlerinde çalışma gruplarına ait gebelik oranları .....	43



## ÖZET

### ORGANİK SELENYUM İLE DESTEKLENEN RASYONLARIN SÜT İNEKLERİNDE YAZ VE KIŞ MEVSİMLERİNDE BAZI BİYOKİMYASAL KAN DEĞERLERİ VE GEBELİK ORANLARI ÜZERİNE ETKİSİ

**Kızanlık C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Reproduksiyon ve Suni Tohumlama (Veteriner) Programı Doktora Tezi, Aydın, 2019.**

Bu çalışmada yaz ve kış dönemlerinde sütçü ineklerin rasyonlarına eklenen organik selenyumun bazı biyokimyasal kan değerleri ve gebelik oranları üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmanın yaz döneminde 60 ve kış döneminde 60 olmak üzere toplam 120 inek her grupta 15 adet olacak şekilde 4'er gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu günlük rasyonlarıyla beslenirken deneme gruplarının rasyonlarına sırasıyla 3 (1. grup), 6 (2. grup) ve 12 (3. grup) g/gün selenyum ilavesi yapılmış, bu uygulama planlanan suni tohumlamadan önceki 40 ve tohumlama sonrası 20 gün sürdürülmüştür. Tüm hayvanlardan 0, 40 ve 60. günlerde kan örnekleri alınarak malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) düzeyleri belirlenmiştir.

MDA düzeyleri arasında kış döneminde herhangi bir fark bulunmazken, yaz döneminde tüm gruplarda 0. gün ile 40. gün ile karşılaştırıldığında görülen farkların istatistiki olarak önemli olduğu görüldü ( $P<0,05$ ). GSH düzeylerinin kış dönemindeki tüm gruplarda 60. günde en yüksek düzeylerine ulaştığı, yaz döneminde ise 2. ve 3. grupta görülen azalmanın istatistiksel olarak önemli ( $P<0,001$ ) olduğu anlaşılmıştır. Kış GSH-Px bulgularının 0 ile 40. günleri karşılaştırıldığında tüm gruplarda anlamlı derecede azalma gözlenirken ( $P<0,001$ ), yaz döneminde aynı günler arasında sadece kontrol grubunda anlamlı bir artış gözlenmiştir ( $P<0,001$ ).

Yaz ve kış mevsimleri karşılaştırıldığında MDA seviyelerinde 1. grup dışındaki tüm gruplarda gözlenen artışın istatistiksel olarak önemli olduğu gözlenmiştir ( $P<0,05$ ). GSH düzeyleri için ise kontrol grubu dışındaki diğer tüm gruplarda kış ve yaz dönemlerinde gözlenen artışın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu belirlenmiştir ( $P<0,05$ ). GSH-Px değerlerinin ise 1. grup

dışındaki tüm deneme gruplarında yaz ve kış döneminde belirlenen değerler arasındaki fark önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ).

Suni tohumlamadan 4 hafta sonra yapılan ultrasonografik muayenelerde gerek mevsim içi gruplar ve gerekse mevsimler arası yapılan karşılaştırmalarda gebelik oranları açısından istatistiksel fark olmadığı görülmüştür. Ancak uygulanan bu kısa süreli beslenme stratejisinde 12 g/gün selenyum takviyesinin yapılması ile gebelik oranlarında kontrol grubuna göre yazın %6,7 kışın ise %20 artış görüldüğü böylece sıcak stresine bağlı gebelik oranlarındaki düşüşleri önleyebileceği kanaatine varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Gebelik, selenyum, sıcak stresi, süt sığırı.



## ABSTRACT

### EFFECT OF ORGANIC SELENIUM SUPPLEMENTATION TO RATION ON SOME BIOCHEMICAL BLOOD PARAMETERS AND PREGNANCY RATES OF DAIRY COWS IN SUMMER AND WINTER SEASON

**Kızanlık C. Aydın Adnan Menderes University Institute of Health Sciences, Department of Reproduction and Artificial Insemination (Veterinary) Doctorate Thesis, Aydın, 2019.**

This study was aimed to investigate the effect of organic selenium added to dairy cows' rations on some biochemical blood parameters and pregnancy rates in summer and winter season.

A total of 120 cows, 60 in the summer and winter each, were divided in 4 groups, consisting of 15 cows. The control group was fed with daily rations, and 3 (1<sup>st</sup> group), 6 (2<sup>nd</sup> group) and 12 (3<sup>rd</sup> group) g/day organic selenium was added to the rations of the experimental groups, respectively. This treatment was conducted 40 days before the planned artificial insemination and continued till 20 days afterwards. Malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH) and glutathione peroxidase (GSH-Px) levels were determined in all animals at the 0<sup>th</sup>, 40<sup>th</sup> and 60<sup>th</sup> days.

No difference was found between MDA levels in winter, but between day 0 and 40 the difference was statistically significant in all groups in summer ( $P<0.05$ ). It was also found that GSH levels reached to the highest levels on 60<sup>th</sup> day in all groups during winter period and significant reduction was seen in the 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> groups in summer period ( $P<0.001$ ). Winter GSH-Px values were significantly decreased in all groups between day 0 and 40, but a significant increase was observed in control group between the same days in summer period ( $P<0.001$ ).

A comparison of winter and summer seasons showed increase in MDA levels in all groups except the 1<sup>st</sup> group was statistically significant ( $P<0.05$ ). In winter and summer periods GSH levels were increased significantly in all groups except control group ( $P<0.05$ ). GSH-Px values in all groups except the first group were found to be significantly different between summer and winter period ( $P<0.05$ ).

After 4 weeks of artificial insemination ultrasonographic scan was performed. There was no statistical difference in terms of pregnancy rates between the seasons and within groups. In conclusion, short-term supplementation of organic selenium, 12 g/day, increases pregnancy rate by 6.7% in summer and 20% in winter compared with control group. Thus selenium supplementation into the ration can improve pregnancy rate during the heat stress.

**Keywords:** Dairy cow, heat stress, pregnancy, selenium.



# 1.GİRİŞ

Ülkemiz hayvan varlığı açısından dünyada önde gelen ülkelerden biridir. Ancak günümüz şartlarında ekonomik karlılığı etkileyen en önemli kriterin hayvan sayısı değil, hayvan başına alınan verim olduğu görülmektedir. Fertilite ise yetiştiricilikte hayvan başına alınan verimin dolayısı ile ekonomik karlılığının devam etmesini sağlayan en önemli etkidir.

Ruminantlarda üreme performansının kötüleşmesi, gebelik başına tohumlama sayısının artmasına, buzağılama aralığının uzamasına, buna bağlı olarak ömür boyu alınacak buzağı sayısının düşmesine ve dolayısıyla tedavi giderlerinin yükselmesine neden olarak kârlılığı etkilemektedir. Son yıllarda başta genetik ilerlemenin neden olduğu verim artışına paralel olarak, başta ilk tohumlamadaki gebelik oranı olmak üzere tüm reproduktif parametrelerin olumsuz etkilendiği görülmektedir. Genetik ilerleme ve artan verim artışının tetiklediği reproduktif parametrelerdeki azalmaya neden olan diğer bir faktör de yem ve beslenme sorunu olarak görülmektedir. Zira hayvancılık işletmelerinde hayvan başına optimum verimin alınması için başta hayvan sağlığının korunması gerekirken diğer önemli bir faktör olarakda hayvanın ihtiyacı olan besin maddelerinin uygun miktarlarda ve biyolojik olarak kullanılabilen formlar şeklinde temin edilmesi görülmektedir.

Bu nedenle dişilerde beslenme durumuna özellikle pubertas öncesi ve sonrası, geçiş dönemleri ile erken laktasyon dönemlerinde çok dikkat edilmesi gerekmektedir. Dişi hayvanın prenatal ve postnatal dönemde maruz kaldığı yetersiz besleme koşulları cinsel olgunluk yaşı, ilk doğurma yaşı ve ergin dönemde üreme performansını önemli derecelerde etkilemektedir. Bu koşulların etkisiyle ortaya çıkan negatif enerji dengesi, rumende yıkımlanabilir protein tüketimindeki artış ile vitamin ve mineral alımındaki dengesizlikler; genç hayvanlarda pubertaya ulaşmada gecikmeler, döl tutma oranlarında düşüşler, fötusta gelişme anomalileri, yavru zarlarının atılamaması, uterus involusyonunun gecikmesi, buzağılama sonrası ilk kızgınlığın gecikmesi, gizli kızgınlık, ovülasyonun gecikmesi ya da gerçekleşmemesi, oosit kalitesinde ve corpus luteum fonksiyonlarında bozukluklar ile erken embriyonik kayıplar gibi birçok fertilite problemine neden olmaktadır. Bu etkiler ayrıca deri ve tüylerle ilgili sorunlara, büyüme geriliklerine, et ve süt üretiminde düşüslere, ayak problemlerine, kas zayıflıklarına ve immun sistemin baskılanmasına sebep olabilirken erkek hayvanlarda spermatozoon sayısının, kalitesinin ve fertilite yeteneğinin azalmasına da sebep olmaktadır. Bunun yanında aşırı beslenme ve sonucunda oluşabilecek özellikle karaciğer ve reproduktif organlarda gözlenen

yağlanmanın da birçok üreme sorununa neden olduğu bilinmektedir. Yüksek ham protein ancak düşük enerjili rasyonla beslenen hayvanlarda gözlenen üre ve amonyak miktarının artması da ciddi üreme problemlerine neden olmaktadır. Reprodüktif açıdan değerlendirildiğinde hayvanların gereğinden fazla beslenmesi yetersiz beslemeye kıyasla daha fazla olumsuz etkileri bulunmakla birlikte saha koşullarında yetersiz beslenme ve buna bağlı sorunlarla daha fazla karşılaşmaktadır.

Hayvanlarda besin öğelerinin eksiklikleri ya da yetersiz-dengesiz beslenme genel olarak rasyonlardaki eksikliklerden ortaya çıkmaktadır. Bu durum dünya çapında çiftlik hayvanlarının beslenmesinde bu eksikliklerin tamamlanması için yem katkı maddelerinin kullanılmasını yaygınlaştırmıştır. Bu amaçla katkı maddesi olarak kullanılan ürünler arasında aminoasitler, makro ve mikro mineraller ile enzimler üst sıralarda yer almaktadırlar.

Bu çalışmada özellikle bölgemizin önemli problemlerinden olan gebelik başına tohumlama sayısının yüksek oluşu ve repeat breeder gibi istenmeyen durumlar göz önüne alınarak rasyona farklı miktarlarda ilave edilen selenyumun gebelik oranları üzerine etkinliği araştırılmıştır. Araştırma yaz ve kış ayları olmak üzere 2 dönemde gerçekleştirilerek yine bölgemizin oldukça önemli sorunlarından biri olan sıcak stresinin neden olduğu fertilitate düşüklüklerine karşı kısa süreli ve dolayısı ile ekonomik bir beslenme stratejisinin etkinliğinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

Genel kabul gören bir görüşe göre çiftlik hayvanlarının reproduktif performansları; genetik yapı, fiziksel çevre, beslenme ve yönetim olmak üzere dört ana faktörden önemli oranlarda etkilenir. Bununla birlikte hem bilimsel çalışmalar hem de saha deneyimleri beslenmeyi bu dört faktör içinde reproduksiyona olan doğrudan etkisi yanında diğer faktörleri dolaylı yoldan da olsa etkileyebilmesi açısından en önemli etken haline getirmiştir. Bu durum uygun ve yeterli beslenmenin hayvanların genetik potansiyellerine ulaşmasına destek olabileceği, uygun olmayan çevresel şartlar ile sevk-idare bozukluklarının neden olduğu olumsuz etkileri ise azaltabilme kapasitesine bağlanmaktadır. Zira yetersiz, fazla ya da dengesiz beslenme üreme performansını sadece genetik potansiyelin altına düşürmekle kalmayacak olumsuz çevre koşullarının da etkisini arttıracaktır. Bu durum beslemeye diğer faktörlerin olumlu etkilerinin garanti altına alınması sağladığından özel bir önem verilmesini gerekli kılmaktadır (Smith ve Akinbamijo, 2000).

Rasyondaki enerji, protein, vitamin ve mineral madde içerikleri üreme performansını doğrudan etkileyen besinsel faktörlerdir. Negatif ya da pozitif enerji dengesi, yetersiz veya aşırı protein tüketimi, mineral veya vitamin yetersizliği gibi beslenme bozuklukları tüm çiftlik hayvanlarında reproduktif dönemin herhangi bir aşamasında üreme sorunlarına yol açmaktadır (Ayaşan ve Karakozak, 2010).

Tüm hayvan türlerinde olduğu gibi ruminantlarda da beslenme ile reproduksiyon arasında çok sıkı bir ilişki olduğu yayınlanan birçok bilimsel makalede bildirilmiştir. Bu ilişkinin oosit ve spermatozoa gelişiminden fertilizasyona, embriyo oluşumundan implantasyona, sonrasında başarılı bir gebelik ve doğuma hatta doğum sonrası döneme kadar olan tüm süreçlerde etkili olduğu kanıtlanmıştır. Yetersiz, fazla ya da dengesiz beslenmenin etkilediği bu süreçler hayvanlarda pubertaya erişmede gecikmelere, ovülasyon bozukluklarına, düşük fertilizasyon ve yüksek embriyonik ölümlere neden olarak gebelik oranlarının azalmasına, doğum sonrası anöstrüs sürelerinin uzamasına, laktasyon bozukluklarına, doğum sonrası yavru ölümlerinin artmasına ve yenidoğan yavruların gelişme performanslarında düşüslere neden olmaktadır. Ancak bu ilişkinin mekanizması buna etki eden besin maddelerinin oldukça fazla olması ve nöro-hormonal mekanizmanın kompleks yapısı nedeniyle henüz tam olarak açıklanamamıştır. Bazı besin maddeleri etkilerini direkt

olarak gonadlar ve reproduktif organlar üzerine etki gösterirken bazıları ise hipotalamo hipofizer-gonadal aksis yoluyla gerçekleştirmektedirler (Smith ve Akinbamijo, 2000).

## 2.1. İz (Mikro) Mineraller

Mineral maddeler hayvan vücudundaki yoğunluklarına göre makro ve mikro mineraller olarak ikiye ayrılmaktadırlar. Bir kilogram yağsız vücut ağırlığında 50 mg'den daha düşük miktarda bulunan mineral maddeler iz ya da mikro mineraller olarak, daha yüksek miktarda bulunanlar ise makro mineraller olarak tanımlanmaktadır (Eren, 2009; Küçükaslan, 2011). İz mineraller enzimlerin ve hormonların yapısına katılan, vitamin sentezi, hücre içi ozmotik basıncın düzenlenmesi, enerji üretimi, immün ve reproduktif sistemin düzenlenmesi gibi pek çok önemli fizyolojik işleyişin sürekliliğinin sağlanmasında görev almaktadırlar. İz mineraller bu işlevlerini gerek tek başlarına, gerekse birbirlerinin mekanizmalarını etkileyerek gerçekleştirebilmektedirler (Hutjens, 1999; Özkul ve ark, 2003; Küçükaslan, 2011).

İz mineraller, enzimlerin kofaktörü ve metallo enzimlerin komponenti olarak sekonder moleküllerin stabilizasyonunu sağlamakta bu yolla hücre içi detoksifikasyon mekanizmasında da işlev görmektedirler. Ayrıca iz mineraller hormonların komponenti olarak görev aldığından doğrudan endokrin aktiviteleri de düzenlemektedirler. Minerallerin seviyesindeki herhangi bir değişiklik bu mekanizma nedeniyle hormon üretimini değiştirebilmektedir (Kumar ve ark, 2011).

Genel olarak iz mineraller klasik ve yeni olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Klasik iz mineraller grubunda; demir, bakır, çinko, manganez, molibden, iyot, selenyum, kobalt, krom ve flor, yeni iz mineraller grubunda ise arsenik, kurşun, nikel, vanadyum, silisyum ve kalay bulunmaktadır. Çiftlik hayvanlarında optimum üreme performansı için en önemli olanlar klasik iz mineraller grubuna dahil olan selenyum, bakır, çinko, iyot, manganez ve kobalt olarak bildirilmektedir (Gelfert ve Staufenbiel, 1998; Küçükaslan, 2011).

Birçok enzim sisteminde kofaktör olarak görev alan bakır, özellikle süperoksit dismutaz aktivitesinde etkili olurken, aynı zamanda testis ve embriyo gelişiminde de rol almaktadır. İneklerde bakır eksikliği steroidal metabolizmada değişimlere neden olduğundan ineklerde gecikmiş veya baskılanmış östruslar, erkeklerde ise spermatozoon kalitesinin düşmesine neden olabilmektedir (Kumar ve ark, 2011).

Çinko bazı reproduktif hormonların aktivasyonunda rol oynadığından östrus belirtilerinin görülmesine, embriyo implantasyonuna ve spermatogenezise direkt etki



göstermektedir (Vazquez-Armijo ve ark, 2011). Reprodüktif problemlerin etiyojisi çok geniş olmasına rağmen serum çinko düzeyindeki küçük düşüşlerin repaet breeder ve anöstrus gibi problemlere neden olabileceği ya da hazırlayıcı bir etken olabileceği bildirilmektedir (Ceylan ve ark, 2008).

İyot ise fötüs gelişimi, thyotropin–releasing faktör salgılanması, prolaktin sekresyonunun uyarılması ve östrus siklusunun uzunluğu üzerine etkilidir. İyot eksikliğinde retensiyon sekondinarum ve post partum genital enfeksiyon insidenslerinde artış olduğu belirtilmektedir (Kumar ve ark, 2011).

Reprodüktif açıdan manganezin rolü tam olarak açıklanamamakla birlikte progesteron, östrojen ve testosteron gibi steroidlerin sentezi için gerekli olan kolesterol sentezinde kofaktör olarak görev aldığı bildirilmektedir (Keen ve Zidenurg-Cherr, 1990). Mangan eksikliği, dişilerde gizli östrus, düzensiz östrus siklusu, kistik ovaryum, zayıf foliküler gelişim ile birlikte gecikmiş ovulasyon, embriyonik ölüm oranının artması ve gebe kalma oranının azalması ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (Kreplin, 1992). Erkeklerde ise libidonun azalmasına, spermatozoaların motilitesinin ve ejakulattaki sperm sayısının azalmasına neden olmaktadır (Kumar ve ark, 2011; Küçükaslan, 2011).

## 2.2. Selenyum

Selenyum (Se), periyodik cetvelde 7A grubunda yer alan, atom numarası 34 olan, hem metal hem de ametal özellikleri gösteren bir elementtir. Elektron konfigürasyonu, atomik büyüklüğü, bağ enerjisi ve iyonizasyon potansiyeli gibi özellikleriyle sülfüre benzerlik göstermektedir (Saeed, 2010).

İlk kez İsveçli kimyager Berzelius tarafından 1817 yılında tanımlanan ve ismini Yunan tanrıçası Selene'den alan selenyum uzun bir süre yüksek toksisiteye sahip, karsinojen bir element olarak tanınmıştır (Saeed, 2010). KlausSchwarz, 1957'de karaciğer nekrozu üzerine yaptığı çalışmalar esnasında selenyumun hem hayvanlar hem de insanlar için gerekli bir mineral olduğunu bildirmesi ve ilerleyen süreçte selenyumun hayvan beslenmesinde kullanılmasına izin verilmesiyle daha geniş çapta araştırmalara konu olmuştur (Zonturlu ve ark, 2008; Küçükaslan, 2011).

Se, memeliler için esansiyel bir element olup doğada eseri miktarlarda, farklı formlarda bulunmaktadır. En önemli Se kaynağını selenifer bitkiler oluşturmakla birlikte,

deniz ürünleri, sakatat, kırmızı ve beyaz et ile selenyum bakımından zengin topraklarda yetişen tahıllar da önemli Se kaynakları arasında gösterilmektedir. Yine yumurta, soğan, sarımsak, mantar ve kuruyemişler de zengin kaynaklardır. Ancak süt ve süt ürünleri, meyve ve sebzeler Se bakımından fakir gıdalar olarak bilinmektedir (Matek ve ark, 2000; Küçük, 2014).

Se doğada 4 formda bulunmaktadır. Bunlar; elementel Se (0), selenid (-II), selenit (+IV) ve selenat (+VI)'tır (Küçük, 2014). Ayrıca Se kimyasal özellikleri nedeniyle kükürt ve telluriuma benzerlik göstermekte, organik ve inorganik bileşiklerde kükürt ile birlikte bulunmaktadır. Se'nin doğada en yaygın olarak bulunan organik formları selenometiyonin (SeMet) ve selenosistein (SeCys), inorganik formları ise selenik ve selanoz asitler ile selenat ve selenitli bileşiklerdir (Kılınç, 2013). Hayvan beslemede ise organik formdaki SeMet ile inorganik formdaki Na-Selenat veya Na-Selenit daha geniş kullanım alanı bulmaktadır (Todorovic ve ark, 2016).

### **2.2.1. Selenyumun Metabolizmadaki Görevleri**

Se ruminantlarda, immun sistem, antioksidan savunma, fertilité, büyüme ve gelişme gibi fizyolojik birçok olaydaki metabolik fonksiyonları ile hayvanların sağlıklarının korunmasında ve verimlerinin devamlılığının sağlanmasında önemli bir role sahiptir. Se, plasentalıyolla ve süt aracılığıyla yavruya rahatlıkla aktarılabilmektedir. Kan serumunda süttten daha yüksek Se konsantrasyonu bulunduğundan plasenta yoluyla geçiş süte göre daha etkilidir. Anneden yavruya aktarılan Se büyümeyi doğrudan etkilememekle birlikte büyümeyi geciktirecek veya engelleyecek faktörlerin ortadan kaldırılmasına yardımcı olmaktadır (Mehdi ve Dufrasne, 2016).

Triiyodotironin (T3) hormonu büyüme mekanizmalarında görev alan tetraiyodotironin hormonunun (T4) aktif formudur. Se, tiroid hormonlarının metabolizmasına katıldığından büyüme ve gelişme üzerine dolaylı yoldan etkilidir. Bu etki 5-iyodotironin deiyonidaz enziminin T4'ü aktive etmesi şeklindedir. Se eksikliği T3'ün azalmasına, dolayısıyla metabolizmada T3/T4 oranındaki düşüşe neden olmakta ve büyüme oranlarını olumsuz yönde etkileyebilmektedir (Mehdi ve Dufrasne, 2016).

Se, dalak, karaciğer ve lenf düğümlerinde diğer doku ve organlara göre daha fazla miktarlarda bulunmakta, kolostrum kalitesi ve immun sistem üzerine de etkili olduğu bilinmektedir. Yapılan araştırmalarda Se'nin sitotoksik T, NK (natural killer cell) hücreleri ve

yardımcı T hücreleri ile birlikte antikor oluşumunu ve nötrofil granüositler gibi fagositik hücrelerin yangı bölgesine migrasyonunu stimüle ettiği bildirilmektedir. Se ilavesi yapılmış rasyonlara sahip ineklerden alınan nötrofil örneklerinin mastit olgularında en sık karşılaşılan *Candida albicans* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı geliştirilmiş fagositik ve bakterisidal etki gösterdiği tespit edilmiştir (Hefnawy ve Tortora-Perez, 2010; Mehdi ve ark, 2013; Todorovic ve ark, 2016).

Se'nin üreme faaliyetleri üzerine olumlu etkiye sahip olduğu, fertilitate, embriyonik implantasyon, post partum hastalıklar, testosteron sentezi ve spermatozoon hareketliliğinde önemli rol oynadığı bildirilmektedir (Mehdi ve ark, 2013). Se'nin spermatozoonun morfolojisini de etkilediği bilinmektedir. Se eksikliği genellikle spermatozonda orta kısmın fragilitesine bağlı spermatozoon motilitesinin azalması ile karakterizedir. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px4) Se'nin spermatozoon kalitesi dolayısıyla fertilitate ile bağlantısını sağlamaktadır. GSH-Px4 gelişmekte olan spermatozoonlarda zararlı reaktif oksijen türlerine karşı koruma sağlarken, bu hücrelerin olgunlaşması sırasında polimerik bir form alarak yapısal bir rol de üstlenmektedir (Beckett ve Arthur, 2005).

Retensiyon sekondinarum sırasında şekillenen immunsupresyonda nötrofillerin fagositik aktivitesindeki yetersizlik, migrasyonlarının azalması ve antioksidan kapasitedeki azalma oldukça etkilidir (Beagley ve ark, 2010). Kan Se seviyesinin düşük olduğu durumlarda nötrofillerin fagositoz yeteneğinin azalmasının yanı sıra endotel hücreleri ile arasında yapışmaların oluşması sonucu enfeksiyon alanına göçü de engellenir. Ayrıca retensiyon şekillenen ineklerde maternal ve fetal dokularda GSH-Px aktivitesi retensiyon şekillenmemiş ineklerden daha düşüktür. Ayrıca Se eksikliği olan rasyonla beslenen süt ineklerinde pre-partum dönemde Se takviyesinin retensiyon sekondinarum insidensini azalttığı vurgulanmıştır (Spears ve Weiss, 2008).

Uterusta şekillenen enfeksiyonlarda fagositik hücrelerin uyarılmasına bağlı olarak oksijen tüketimi artmaktadır. Bu tüketimin artmasıyla süperoksit radikalleri ve oksijen metabolitleri şekillenmektedir. Oluşan radikaller fagosite edilmiş mikroorganizmaları veya intraselüler bakterileri imha reaksiyonlarında görev almaktadır. Ancak radikallerin kontrolünün sağlanamadığı durumlarda nötrofillerin de ölümü şekillenmektedir. Uterustaki hücresel immun yanıtta uterus hücrelerinin hem bakterilerden hem de oluşan metabolitlerden korunmasında Se ve GSH-Px enzim sisteminin antioksidan rolü büyüktür (Azawi, 2008).

Metabolizmada reaktif oksijen radikallerinin aşırı miktarda oluşması ineklerde embriyoların blastosist aşamasına gelme olasılığını azaltmaktadır. Yapılan araştırmalar rasyona ilave edilen Se'nin embriyo gelişiminin erken safhalarında oksidatif hasarı ve

apoptozu önlemede etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca alınan Se sayesinde vücutta sentezlenen selenoproteinlerden GSH-Px1'in granuloza hücre sayılarını belirgin bir şekilde arttırdığı ve bu sayede erken embriyonik ölüm oranlarının azaldığı tespit edilmiştir (Cerri ve ark, 2009; Mehdi ve Dufrasne, 2016). Bu bağlamda Se eksikliği olan ineklerde rasyonayapılan Se ilavesiyle ilk servis periyodu için başarı oranının arttığı bildirilmiştir (Kommissrud ve ark, 2005).

Vitamin E ile Se arasında çok yakın bir ilişki olduğu, her ikisinin de hücreleri yağ asitleri tarafından üretilen peroksitlerin zararlı etkilerinden korudukları bildirilmektedir. Se GSH-Px'in yapısına girerek hücre içi antioksidanı olarak görev yaparken vitamin E ise hücre membranı oksidasyonunun engellenmesinde rol oynadığı bildirilmektedir. Vitamin E, oksidanları reaktif olmayan formlarına dönüştürmek suretiyle membran fosfolipidlerinin peroksidasyonlarına engel olarak bu işlevi gerçekleştirmektedir (Segerson ve Libby, 1982; Corah ve Ives, 1991; Olson, 1995; McKenzie ve ark, 1998). Vitamin E ve selenyum eksikliklerinde ortaya çıkan serbest radikaller sadece hücre hasara neden olmakla kalmaz steroid ve prostoglandinlerin üretim ve sentezini, ovülasyonu, embriyo gelişimini, gebelik oranlarını, fetal membranların atılımını ve süt üretimini de etkilemektedir (Smith ve Akinbamijo, 2000).

## **2.2.2. Selenyumun Absorbsiyonu**

Ruminantların Se'yi monogastrik hayvanlara göre daha az miktarda absorbe edebildiği bilinmekte bu durumun rumende bulunan mikrofloradan kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca Se'nin emilimini rasyonun da etkilendiği bilinmektedir. Örneğin rasyonlarında konsantrasyonun yüksek olduğu çiftliklerde rumendeki pH değişimine bağlı olarak Se emiliminin azaldığı bildirilmiştir (Gerloff, 1992).

Se'nin metabolizması kimyasal formuna ve sindirim kanalındaki çözünürlüğüne bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Diğer besin maddelerinde olduğu gibi organik ve inorganik formdaki Se ruminantların ince bağırsağında emilmeden önce rumendeki mikroorganizmalar tarafından metabolize edilmektedir. Ancak rumendeki Se metabolizması hakkında bilgiler sınırlı kalmıştır (Saeed, 2010). İnorganik formlar sindirim kanalında daha az emilmekte ve bu nedenle de dışkı ve idrar ile birlikte daha fazla atılmakta (Kryzyzewski ve ark, 2014), genellikle duodenumdan, daha az olarak da jejunum ve ileumdan absorbe edilmektedir. Selenometiyonin gibi organik formları aminoasit transfer mekanizması ile aktif

olarak absorbe edilirken, selenat gibi inorganik formlarının ise pasif olarak absorbe edildiği bildirilmektedir (Coşkun ve ark, 2000; Kılınç 2013).

### **2.2.3. Selenoproteinler**

Se'nin biyolojik fonksiyonu dokularda bulunan selenoproteinler sayesinde gerçekteşmektedir (Küçük, 2014). Mevcut araştırmalarla yaklaşık 100 selenoproteinden 30'unun biyokimyasal fonksiyonları tanımlanmış, 15'inin de DNA ile bağlantılı görevleri saptanmıştır (Kryzyzewski ve ark, 2014). Selenoproteinler özellikle biyokatalist olarak fonksiyon görmekte ve bu fonksiyonlar 5 selenoprotein tarafından yürütölmektedir. Bunlar; glutatyon peroksidaz (GSH-Px), tiyoredoksin redöktaz (TrxR), iyodotironin deiyodinaz (ID), selenoprotein P (SEPP) ve selenoprotein W (SEPW)'dir.

GSH-Px enzimlerinden hücre sel glutatyon peroksidaz (GSH-Px1) ilk kez 1973'te tanımlanmış daha sonrasında bu enzim grubuna ait GSH-Px2, GSH-Px3 ve GSH-Px4 olmak üzere 3 enzim daha eklenmiştir. Etki yerleri ve fonksiyonlarına göre farklılık göstermekte olan bu enzimler hidroperoksitleri katabolize ederek antioksidatif etki göstermektedir (Burk ve ark, 2003). Bu proteinlerin sentezi ile birlikte farklı organ ve dokulardaki fonksiyonlarını yerine getirmesinde rasyona eklenen Se büyük rol oynamaktadır (Hefnawy ve Tortora-Perez, 2010).

**Tablo 1.** Selenoproteinlerin metabolizmadaki fonksiyonları (Beckett ve Arthur, 2005; Vazquez-Armijo ve ark, 2011).

<b>Selenoprotein</b>	<b>Fonksiyonu</b>
GSH-Px1 (Hücrel glutatyon peroksidaz)	Se depolanması, klasik antioksidan
GSH-Px2 (Gastrointestinal glutatyon peroksidaz)	Gastrointestinal sistemde antioksidan koruma
GSH-Px3 (Plasma-ekstraselüler glutatyon peroksidaz)	Plazma ve ekstraselüler antioksidan
GSH-Px4 (Fosfolipid-hidroperoksit glutatyon peroksidaz)	İntraselüler antioksidan, apoptozis ve spermatozoon yapısal proteini
TrxR (Tioredoksin redüktaz)	DNA sentezi, redoks regülatörü
ID (İyodotironin deiyonidaz)	Tiroid hormonlarının regülasyonu
SPP (Selenoprotein P)	Se'nin taşınması, oksidatif yaraların iyileşmesi
SPW (Selenoprotein W)	Kas metabolizmasının düzenlenmesi

### 2.2.3.1. Glutatyon peroksidaz

Metabolizmadaki oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonları sonucu farklı peroksitler oluşmaktadır. Hidrojen peroksitin de içinde bulunduğu bu peroksitler, serbest radikallerin üretilmesine neden olduklarından metabolizma için oldukça tehlikelidir (Payne, 2004).

Se bağımlı bir metallaoenzim olan GSH-Px birbirine benzer 4 alt üniteden oluşmakta ve her alt ünitenin aktif bölgelerinde bir Se atomu içermektedir. GSH-Px substratlarının peroksitler ve indirgenmiş glutatyon (GSH) olduğu belirtilmektedir (Akkuş, 1995).

GSH-Px'in aktivitesini sürdürmesi için GSH'nin belirli bir seviyede bulunması gerekir. GSH-Px GSH'yi redükte ederek glutatyon disülfid (GSSG) oluşturmakta, aynı reaksiyonda hidrojen peroksiti suya çevirerek membran lipitlerini ve eritrositleri oksidatif hasara karşı korumaktadır. Redüksiyon reaksiyonu sonucu oluşan GSSG, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat'a (NADPH) bağımlı glutatyon redüktazın katalize ettiği başka bir reaksiyonla tekrar iki molekül GSH'ye dönüştürülmektedir (Mc Cord, 2000; Payne, 2004).

GSH-Px lipit peroksitlerini de indirgeyebildiği için membran bütünlüğü, yapısı ve fonksiyonunun korunmasıyla lipit peroksidasyonunun önlenmesinde etki göstermektedir (Mc

Cord, 2000).GSH-Px'in memeli sistemlerinde 4 izoenzimi bulunmakta, aktivitelerinin karaciğerde yüksek, beyin, akciğer ve kalpte orta, kas dokuda ise düşük olduğu belirtilmektedir (Payne, 2004).

Klasik glutatyon peroksidaz olarak da bilinen ve tüm vücut hücrelerinde bulunan GSH-Px1, hidrojen peroksitin yanı sıra uzun zincirli yağ asidi peroksitlerini, organik peroksitleri ve kolesterolü metabolize edebilmektedir. Aynı zamanda tetrametrik yapısında SeCys rezidülerini depolayabilmektedir. Metabolizmada şekillenen Se yetersizliklerinde bu depo sayesinde selenoproteinler sentezlenebilmektedir. Yapısında Se depolayabildiğinden metabolizmaya alınan Se seviyesinin belirlenmesinde indikatör olarak kullanılabileceği belirtilmektedir (Arthur, 1992; Brown ve Arthur, 2001; Payne 2004)

Gastrointestinal glutatyon peroksidaz (GSH-Px2), sindirim kanalındaki sindirilmiş lipit hidroperoksitlerini metabolize etmektedir. Sindirim kanalında bulunan bu enzim özellikle kolondaki en önemli selenoproteindir (Brown ve Arthur, 2001).

Tetramerik yapısıyla GSH-Px1'e benzeyen ekstraselüler GSH-Px3, renal proksimal tübüllerin epitelyum hücrelerinde ve hücre dışı alanlarda antioksidan fonksiyona sahiptir. Bu enzimin metabolitleri plazma ve ekstraselüler alanlarda bulunmaktadır (Brown ve Arthur, 2001).

Fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz (GSH-Px4), hücre membranına bağlı olup lipit hidroperoksitlerinin indirgenmesinden sorumludur. Monomerik yapıda olan enzim, metabolizmadaki Se seviyesinin düşük olmasına GSH-Px1'e göre daha dayanıklıdır. Lipit hidroperoksitlerinin yıkılmaması sonucunda oluşacak olan serbest radikaller hücre zarlarının bütünlüğünü bozacağından GSH-Px4 antioksidatif savunmada önemli bir role sahiptir (Arthur 1992; Brown ve Arthur, 2001). Ayrıca apoptotik hücre ölümünde ve spermatozoonun olgunlaşmasında da görev almaktadır (Beckett ve Arthur, 2005).

#### **2.2.4. Ruminantlarda Selenyum Gereksinimi**

Yapılan araştırmalar sayesinde Se'nin, esansiyel bir element olduğu, eksikliğinin ruminantlarda beyaz kas hastalığına, infertilite problemlerine ve immun sistemin zayıflamasına yol açtığı bildirilmektedir (Weiss, 2005; Ziaei, 2015). Se eksikliği özellikle ek beslenme olmaksızın nötr veya asidik topraklarda yetişen yemlerle beslenen hayvanlarda yaygın olarak görülmekte ve bu durumdan ilk olarak kalp, iskelet kası ve karaciğer etkilenmektedir. Eksikliğin belirtileri genç ve yetişkin hayvanlarda farklılık göstermektedir.

Genç hayvanlarda, dejeneratif miyopatiyle karakterize beyaz kas hastalığı Se eksikliğinden kaynaklanan en yaygın hastalıktır. Yetişkinlerde nadiren ve gizli seyretmektedir. Vakaların çoğu doğumdan sonraki haftalarda gerçekleşmekle birlikte, genellikle büyük ruminantlarda ilk 4 ay, küçük ruminantlarda ise ilk 2 ay içinde gözlenebilmektedir. Başlıca klinik semptomları arasında kas-iskelet sistemi bozuklukları, kas titremeleri, yutma güçlüğü ve taşikardi bulunmaktadır. Özellikle yüksek büyüme oranına sahip hayvanlar daha fazla etkilenmektedir. Koyunlarda yün veriminde azalma görülürken, süt ineklerinde sütün yağ içeriğinde azalmalar şekillenebilmektedir (Mehdi ve ark, 2013).

Her hayvan türü için tolere edilebilir Se düzeyi değişkenlik göstermekte olup akut toksikasyon sığırların 10-20 mg/kg tüketimi ile ortaya çıkmaktadır. Akut toksikasyonun başlıca semptomları hafif ataksi, kulakların aşağıya doğru düşmesi, vücut ısısının yükselmesi, nabzın hızlanması ve solunum zorluğudur. Solunum güçlüğü sonucu hayvan ölür (NRC, 2001; Ergün ve ark, 2004; Küçük, 2014). Kronik toksikasyon ise sığırların uzun süre kilogramında 5-40 mg Se içeren rasyonlarla beslenmesi sonucu meydana gelmektedir. Semptomları arasında topallık, hızlı büyüyen, yumuşak ve kırılğan tırnaklar, kıl kaybı görülmektedir. Bu semptomlar nedeniyle çinko eksikliğine benzediğinden teşhiste dikkat edilmelidir. Ayrıca kronik toksikasyonlarda karaciğerde küçülme, siroz ve kronik nefritis de görülebilmektedir. Rasyona arsenik ilavesi ile toksik etki bir miktar azaltılsa da, kendisi de toksik olan arseniğin ilavesine çok dikkat edilmesi gerekmektedir (NRC, 2001; Ergün ve ark, 2004; Mehdi ve Dufranse, 2016).

Yaklaşık 50 yıl önce Se'nin memeliler için gerekli bir iz mineral olduğu tespit edildikten sonra selenyumca zengin besinlerle beslenmenin ya da rasyonlara ilave edilmenin birçok olumlu etkisinin olduğu gözlemlendi. Bununa birlikte 1979 yılına kadar ABD'de evcil hayvanların diyetlerine Se ilavesine izin verilmezken sonrasında sodyum selenit ve selenat olarak 0,1 ppm miktarında eklenmesine izin verildi. Bu miktar 1987 yılında yönetmelikte yapılan değişiklikle ruminant diyetlerinde 0,3 ppm olarak revize edildi. Eylül 2003'te Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (US Food and Drug Administration - FDA) tarafından yapılan yeni düzenleme ile süt ve besi hayvanlarının rasyonlarında organik Se kullanılmasına ve kullanım oranının ise 0,3 ppm olarak devam edilmesine karar verildi (FDA, 2003; Weiss, 2005).

Çiftlik hayvanlarında Se ihtiyacı ve maksimum tolere edilebilir Se miktarları Tablo 2'de belirtilmiştir (NRC, 2001; NRC, 2005).



**Tablo 2.** Çiftlik hayvanlarında Se ihtiyacı ve maksimum tolere edilebilir Se miktarları.

Hayvan türü	Önerilen günlük miktar	Tolere edilebilir düzey
	(mg/kg KM)	(mg/kg KM)
Süt İneği	0,3	5
Besi Danası	0,1	5
Buzağı	0,3	5
Koyun	0,1 - 0,2	5
Keçi	0,1	5

Hayvanlarda Se düzeyi kan, serum, plazma, süt gibi sıvılarda veya böbrek ve karaciğer gibi dokularda doğrudan belirlenebilirken, aynı zamanda tam kan ve eritrositlerdeki GSH-Px aktivitesi ile dolaylı olarak da ölçülebilmektedir (Saeed, 2010; Mehdi ve ark, 2013).

### 2.3. Serbest Radikaller

Moleküler oksijen, yaşayan tüm aerobik organizmaların enerji gereksinimleri için gerekli bir element olup serbest radikaller bu sistem içerisinde doğal olarak meydana gelen son ürünlerdir. Reaktif oksijen türleri (Reactive Oxygen Species-ROS) olarak adlandırılan oksijen kaynaklı radikaller serbest radikal zincir reaksiyonlarını başlatabildiklerinden vücudun oksijen metabolizmasında oldukça önemli bir konumdadırlar (Sordillo ve Aitken, 2009).

Bitkiler fotosentez sonucu redükte moleküller şekillendirirken, memeliler çeşitli biyokimyasal reaksiyonlar sonucunda bu molekülleri karbondioksit ve suya indirgeyerek, adenozin trifosfat (ATP) gibi kullanılabilir ve depo edilebilir bileşiklere çevirmektedirler. Bu redoks tepkimelerinde okside edilebilen moleküllerden oksijene elektron transferi gerçekleşmektedir. Redoks tepkimeleri yalnızca elektron transferi ile değil aynı zamanda kovalent bağlarda elektron yörüngelerinin değişmesi ile de meydana gelmektedir. Okside olmuş moleküller elektrofilik olduklarından diğer moleküllerden elektron alabilmekte ve serbest radikalleri yani oksidanları oluşturmaktadırlar (Çaylak, 2011).

Organizmada oluşan serbest radikaller endojen ve eksojen sebeplerden olup fizyolojik olarak gerçekleşen hücresel aktivitelerin çoğunda doğal olarak oluşmaktadır. Mitokondriyal elektron transport zincirinde, sitokrom P450 sisteminde, araşidonik asit metabolizmasında ve

redoks döngüleri gibi birçok mekanizma sonucunda endojen kaynaklı serbest radikaller oluşmaktadır. Eksojen olanlar ise radyasyon, hava kirliliği, sıcaklık, ultraviyole (UV) ışık, toksik gazlar, ksenobiyotikler gibi dış etkenlerdir (Lykkesfeldt ve Svendsen, 2007; Çaylak, 2011).

Serbest radikallerin ortaya çıkması fizyolojik bir olay olup, organizmada serbest radikal düzeyinin bir denge içinde bulunması gerekir. Serbest radikaller fizyolojik düzeylerde bulunduğu protein fosforilasyonunda, transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunda, apoptoziste ve hücrel bağışıklıkta görev almaktadır. Ayrıca oosit olgunlaşması, ovulasyon, implantasyon, luteal devamlılık gibi reproduktif olaylarda da regülatif rol üstlenmektedir (Agarwal ve ark, 2005; Georgieva, 2005). Bununla birlikte serbest radikallerin düzeyindeki artış, antioksidan düzeylerinde azalma sonucunda vücuttaki oksidan-antioksidan dengesinin bozulması oksidatif stres denilen bir dizi patolojik olaya sebep olmaktadır. Yapılan çalışmalarla organizmada reproduktif sistemi de içerisine alan birçok sistemdeki hasar ve hastalıkların kaynağı oksidatif stres olarak gösterilmektedir (Agarwal ve Allamaneni, 2004).

Oksidatif strese neden olan moleküller, ortaklanmamış elektron içerdiklerinden kolayca elektron alışverişi yapan (radikaller) ve elektron eksiklikleri olmamasına rağmen diğer moleküllerle radikallerden daha zayıf şekilde bileşenler (non-radikaller) olarak ikiye ayrılmaktadırlar (Yerer ve Aydoğan, 2000).

**Tablo 3.** Reaktif oksijen türleri (Kocaarslan, 2013).

<b>Radikaller</b>	<b>Non Radikaller</b>
Süperoksit radikal ( $O_2^-$ )	Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )
Hidroksil radikal ( $OH^-$ )	Lipid hidroperoksit (LOOH)
Peroksil radikal ( $ROO^-$ )	Hipohaloz asit (HOX)
Alkoksil radikal ( $RO^-$ )	N-Halojenli aminler (R-NH-X)
Semikinon radikal (HQ)	Singlet Oksijen ( $^1O_2$ )
Hemoproteine bağlı serbest radikaller	Ozon ( $O_3$ )
	Azotdioksit ( $NO_2$ )

## 2.4. Oksidasyonun Biyokimyasal Mekanizması

Metabolizmada başlıca glikozun oksidasyonu olmak üzere, anabolik ve katabolik reaksiyonlar sonucu oluşan oksidanların seviyesi enzimatik ve enzimatik olmayan yollarla belirli bir seviyede tutulmaktadır. Ancak çeşitli nedenlerle oksidan maddelerin normal seviyelerinin üzerine çıkması durumunda patolojik olaylar meydana gelmesi kaçınılmaz olmaktadır. Oksidanların patolojik etkileri genellikle nükleik asitler, lipidler, proteinler, enzimler ve karbonhidratlar gibi biyolojik olarak önemli makromoleküller üzerine olmakta, bunlarla gösterdiği etkileşim hücre hasarı ve ölümüne kadar gidebilen sonuçlara neden olabilmektedirler (Yerer ve Aydoğan, 2000; Kankofer, 2002).

Oksidan maddeler karbonhidrat metabolizması üzerine adenzin trifosfat sentezinin azalması veya adenzin trifosfat kullanımının artması yönünde etki göstermektedir. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehydler oluşmaktadır. Okzoaldehydler DNA, RNA ve proteinlere bağlanarak yapılarını değiştirmekte ve kanser oluşumunda rol oynamaktadır (Akkuş, 1995; Yerer ve Aydoğan, 2000).

Başta yüksek reaktiviteye sahip hidroksil radikalleri olmak üzere oksidan maddeler lipid ve proteinlerle olduğu gibi DNA molekülleriyle de etkileşime girmektedirler. Oksidan maddeler bu yolla deoksiriboz ve bazlarla reaksiyona girerek zincir kırılmalarına, oksidasyon sonucu oluşan baz radikalleri ise çapraz bağların oluşmasına neden olmaktadır. Sonuçta hücrelerin oksidan maddelere maruz kalması replikasyon ve transkripsiyon üzerine etkili olup, aynı zamanda DNA tamir mekanizmalarını baskılayarak DNA hasarını daha da arttırmaktadır (Kankofer, 2002; Özcan ve ark, 2015).

Hem serbest hem de proteinlere bağlı olan aminoasitler de oksidatif hasar için hedef oluşturmaktadır. Protein peroksidasyonu lipid peroksidasyonu kadar etkili olmasa da aminoasitlerin modifikasyonuna, protein moleküllerinin agregasyonuna veya parçalanmasına ve biyolojik aktivitelerini kaybetmesine neden olabilmektedir. Proteinlerin oksidatif hasardan etkilenme dereceleri aminoasit dizilimine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Doymamış bağ ve sülfür içeren moleküller oksidanlarla daha kolay etkileşime girdiğinden triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, methionin, sistein gibi aminoasitlere sahip proteinler daha fazla hasar görebilmektedirler. Oksidan maddeler dekarboksilasyona, peptid bağlarının hidrolizine, disülfid ve çapraz bağların oluşumuna neden olduğundan hücre için esansiyel olan Ca-ATPaz, Na/K ATPaz gibi enzimler fonksiyon kaybına uğramakta, dolayısıyla hücre içi ve dışı iyon dağılımı bozulmaktadır (Yerer ve Aydoğan, 2000; Kankofer, 2002).

Oksidan maddeler biyolojik membranlarda bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinde de oksidasyona yol açarak lipid peroksidasyonuna neden olmaktadır. Organizmada en sık görülen serbest radikal hasarı lipid peroksidasyonudur. Bu olay membrandaki doymamış yağ asitlerinden bir hidrojen çıkmasıyla meydana gelmekte ve birbirini izleyen reaksiyonlar sonunda sitotoksik ürünler olan aldehitler oluşmaktadır. Aldehitlerin en son basamağında oluşan malondialdehit (MDA) lipid peroksidasyonunun göstergesi olup, ölçülebilir MDA miktarı lipidperoksidasyonunun indeksi olarak kullanılmaktadır. Peroksidasyon ürünleri birbirleri ile kovalent bağ oluşturarak membran yapısının bozulmasına, iyonlara karşı permeabilitenin artmasına ve organellerin bütünlüğünün kaybolmasına neden olmakta ve sonuç olarak hücre hasarı veya hücre ölümü meydana gelmektedir (Kankofer, 2002; Celi 2011; Özcan ve ark, 2015).

## **2.5. Oksidatif Stres**

Stres organizmanın zararlı uyarılara karşı oluşturduğu spesifik olmayan tepki olarak tanımlanmaktadır. Organizma tarafından verilen yanıt 3 aşamadan oluşmaktadır. Bunlardan ilki alarm tepkisidir. Bu aşamada otonom sinir sistemi aktive olarak adrenal medulladan salgılanan adrenalin salınımında artış görülmektedir. Stres faktörleri devam ettiğinde organizma direnç aşaması olan ikinci aşamaya geçer. Alarm tepkisinin ortadan kalkması sonucu organizmanın stresli ortama uyum sağladığı, adrenalinin normal düzeye indiği gözlemlense de organizma bu aşamada direnç kaybı yaşamaktadır. Organizma şekillenen direnç kaybı ile birlikte son aşama olan tükenme aşamasına geçmektedir. Bu aşamada alarm tepkisinde gözlemlenen belirtiler tekrar ortaya çıkmakta ve kalıcı olmaktadır. Sonuç olarak çeşitli hastalıklar meydana gelmekte ve hatta buna bağlı ölümler şekillenebilmektedir (Seaward, 2014).

Oksidatif stres metabolizmadaki serbest radikal üretimi ile vücudun antioksidan kapasitesi arasındaki dengenin bozulması sonucu oluşmaktadır. Oluşan serbest radikaller protein, lipid ve DNA gibi önemli hücresel bileşenlerin yapısının bozulmasından kaynaklanan hastalıkların yanı sıra üreme sistemini de olumsuz etkilemektedir (Berchieri-Ronchi ve ark, 2015).

Antioksidan savunma sistemi ile antioksidan maddeler arasında meydana gelen dengesizlik aşırı miktarda ROS birikiminden olabileceği gibi dokulardaki antioksidanların azalması ya da her iki faktörün birlikte seyri ile de meydana gelebilir. Bunun sonucunda

meydana gelen ve oksidatif stres olarak tanımlanan durum sıklıkla patolojik bozukluklarla ilişkili olmasına rağmen ROS artışının hastalıkların bir sonucu ya da nedeni olduğu her zaman ispatlanamamıştır. Ancak birçok bilimsel makale oksidatif stresin yoğun hücre hasarına, immun ve yangısel reaksiyonlara neden olduğunu açık bir şekilde desteklemektedir (Spears, 2000; Spletstoeser ve Schuff-Werner2002; Victor ve ark, 2004).

ROS tüm dokularda lipit peroksidasyon ve hücresel hasara neden olduğu gibi immun savunma sistemi hücrelerinde de hasara neden olabilmektedir. Membranlarının doymamış yağ asitlerince zengin olması ve uyarıldıklarında yüksek miktarlarda ROS üretebilme yetenekleri, vücudun savunma hücrelerini oksidatif strese oldukça duyarlı hale getirmektedir ki bu durum canlıyı birçok hastalığa predispose duruma sokmaktadır (Spears ve Weiss, 2008).

Oksidatif stresin birçok hastalığa sebep olduğu söylene de kendisi klinik hastalıklar gibi özel semptomlar göstermez. Vücutta meydana gelen oksidatif stresin belirlenmesi için bazı yöntemler geliştirilmiştir. Bunların bazıları her bir antioksidanın serum düzeylerinin tek tek belirlenmesi ya da vücudun total antioksidan kapasitesinin ölçülmesiyle yapılabilmektedir (Cao ve Prior, 1998; Ghiselli ve ark, 2000; Niki ve Noguchi, 2000; Serin ve ark, 2008). Oksidatif stresin bazı makromoleküller ile glutatyon (GSH), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyonperoksidaz (GSH-Px) ve katalaz (CAT) gibi antioksidan maddeler üzerinde neden olduğu değişikliklerin belirlenmesi oksidatif stres ve vücudun antioksidan kapasitesi hakkında önemli bilgiler verir (Sharma ve ark, 2011).

### **2.5.1. Oksidatif Stresin Reprodüktif Sistem Üzerine Etkisi**

Süt ineklerinde oksidatif stres doğumdan sonra retensiyon sekondinarum, meme ödemi ve mastit oluşumunu tetikleyerek üreme fonksiyonlarını da etkilemektedir (Goff, 2006). Yapılan araştırmalarda lipit metabolizmasındaki bozuklukların retensiyon sekondinarum insidensini arttırdığı gözlemlenmiştir. Oksidatif stres sonucu hiyaluronik asidin bozulan metabolizması nedeniyle kotiledon zarlarının ayrılmasında sorunlar yaşanabilmektedir. Plasentadaki karunkula ve kotiledonlardaki PGF2 $\alpha$  konsantrasyonundaki artış lipit peroksidasyonunu indüklemesinin yanı sıra doku hasarına ve retensiyon sekondinaruma neden olabilmektedir (Tanaka ve ark, 2000; Celi, 2011). Ayrıca retensiyon sekondinarum uterus enfeksiyonlarına da zemin hazırlamaktadır. Dışarıdan yapılan antioksidan takviyesi ile oksidatif denge korunabilmekte böylece uterus enfeksiyon insidensini azaltılabilmektedir (Spears ve Weiss, 2008). Bu duruma ek olarak, reaktif oksijen türleri sitokrom P450'nin

inhibisyonundan, korpus luteum regresyonunda ovaryumlara kan akımının azalmasından, kolesterolün hücre içi mitokondriye taşınmasından ve LH reseptörlerinin bozulmasından da sorumlu tutulmaktadır (Sugino, 2006).

Serbest radikaller embriyo metabolizması kaynaklı olarak da şekillenebilmektedir. Serbest radikal oluşumuna karşı SOD, GSH-Px vb gibi hem internal, hem de transferrin, askorbik asit vb gibi eksternal kaynaklı oviduktal koruması sağlanmaktadır. Ancak embriyo gelişim süresince oluşan serbest radikallerin seviyesindeki artış oksidatif strese neden olabilmekte ve defektif embriyolar şekillenebilmektedir (Guerin ve ark, 2001). Serbest radikaller lipidperoksidasyonunu ve DNA parçalanmasını arttırmakla birlikte enzimlerin ve mitokondriyal yapıların fonksiyonlarını değiştirmek suretiyle preimplantasyona zarar vermekte ve embriyonik ölümlere neden olmaktadır (Takahashi ve ark, 2000; Guerin ve ark, 2001; Agarwal ve ark, 2005).

Gebelik sırasında artan enerji ihtiyacı ve dokuların özellikle de plasenta ve fetüsün yüksek miktarlarda oksijen gereksinimi hem annenin hem de yavrunun oksidatif strese maruz kalma olasılığını büyük ölçüde artırır. Anne ve fetüs tarafından hücrelerin çoğalması, farklılaşması ve maturasyonları sırasında ya da enfeksiyonlar nedeniyle üretilen ROS eğer belirli bir düzeyi geçerse hücrelerin yapılarında değişikliklere ve dolayısı ile özellikle yavruya zararlara neden olur. Fakat burada bilinmesi gereken bir başka husus normal fizyolojik seviyelerdeki reaktif oksijen türlerinin embriyo gelişiminde, implantasyonda, fetüsün uterus enfeksiyonlarına karşı korunmasında, steroidlerin üretiminde, gebeliğin devamında, doğumda ve involüsyonda gerekli olduğu, zararlı etkilerinin ise kontrol dışı üretilen ve antioksidan savunma mekanizması tarafından bertaraf edilemeyen durumlarda ortaya çıktığıdır. Yüksek miktarlara ulaşan ROS düzeyleri fetal gelişimde gecikmelere, plasental dejenerasyona, embriyo rezorbsiyonuna ve devamında gebeliğin sonlanmasına ya da abortlara neden olabilir. Fizyolojik düzeylerin üzerinde ya da altında oluşabilecek ROS düzeylerinin ayrıca postpartum süreçte karşılaşılabilecek uterus tembelliği, torsiyonu, plasental retensiyon gibi birçok reproduktif bozukluğun sebebi de olabilir (Myatt ve Cui, 2004; Garrel ve ark, 2010).

Oksidatif stres altında bulunan hayvanlara antioksidan madde desteğinin örneğin fetal membranların atılamaması ya da ovaryum kistlerinin oluşumunu önemli oranlarda azalttığı bildirilmiştir (Harrison ve ark, 1984; Miller ve ark, 1993; Campbell ve Miller, 1998).

## 2.6. Antioksidan Savunma Sistemi

Oksijen metabolizması sırasında oluşan reaktif oksijen türlerinin makro moleküllerin oksidasyonuna neden olmadan önce bu reaktif maddelerin yakalanmasını ya da bu engellenemediyse okside olmuş biyomoleküllerin bertaraf edilmesini sağlayacak bir antioksidan savunma mekanizmasını gerekli kılar (Smith ve Akinbamijo, 2000).

Vücut normal metabolizma esnasında ya da patolojik durumlar sonucunda oluşan serbest radikallerin ürünleriyle baş edebilecek yeterli antioksidan rezervine sahiptir (Miller ve ark, 1993; Róth, 1997). Oksidatif stres ancak olağan dışı durumlarda serbest radikallerin oluşumunun vücudun antioksidan üretim kapasitesi ve yeteneğini aştığı durumlarda meydana gelir. Sütçü ineklerde özellikle peripartum ve laktasyon dönemlerinde metabolik stres faktörlerinin artması farklı hastalıkların başlamasına zemin hazırlayabilmektedir (Goff ve Horst, 1996). Her ne kadar doğal olarak meydana gelen bir ürün olsa da özellikle de reaktif oksijen türlerinin dokularda aşırı birikmesi hücrelere büyük zarar verirken başlıca biyolojik hedefleri yağlar, proteinler, DNA ve diğer makromoleküller olarak karşımıza çıkmaktadır. Oksidatif strese maruz kalan bir organizma oksidanları etkisizleştirme, oksidatif hasarın onarılması ya da ortadan kaldırılması ve onarılamaz hasarlara uğramış hücre ya da dokuların kapsül içine hapsedilmesi gibi yöntemlerle vücudu koruma altına alır. Buna göre antioksidanlar hedef moleküllerin oksidatif zarara uğramasını geciktiren, engelleyen ya da oluşmuş zararı ortadan kaldıran maddeler olarak tanımlanabilir (Halliwell ve Gutteridge, 2007). Antioksidanlar vücutta sentez edilebilen ya da besin maddeleriyle dışarıdan alınarak doku ve farklı hücre tiplerinde lokalize olan maddelerdir. Yine antioksidan maddeler yağda veya suda eriyebilirliklerine ya da kimyasal ve fiziksel karakterlerine de göre gruplandırılabilirler (Matés ve Sanchez-Jimenez, 1999).

Lipofilik ya da hidrofilik antioksidanların varlığı oksijen metabolizması sırasında doku bütünlüğünün devamı açısından gereklidir. Normal koşullar altında vücut antioksidan mekanizması reaktif oksijen türlerini tutarak onları nötralize ya da elimine eder. Olağan dışı bir durum söz konusu olduğunda ise bu savunma mekanizması bu durumla baş edemeyecek hale gelerek hedef dokulardaki hücrelerin oksidatif zarar görmesini ve sonucunda oksidatif stres oluşumunu engelleyemez (Sies, 1986; Brenneisen ve ark, 2005). Sonuç olarak vücudun antioksidan savunma mekanizması fazla oksidana maruz kalma, vücut içi oksidan üretimi artarken antioksidan üretiminin azalması ya da dışarıdan alınan antioksidan miktarının yetmemesi neticesinde oksidatif stresin zararlarını onaramaz ya da engelleyemez. Bu durum

hücre ölümü ya da apoptosis da dahil olmak üzere hücre ve dokularda hasarlara ve sonuçta birçok patolojik bozukluğun başlamasına ve oluşumuna neden olur (Payne ve ark, 1995).

Sığırlarda vitamin E ve Se'nin nötrofillerin fonksiyonel kapasiteleri üzerine de etki ettiği gözlenmiştir. Yeter miktarda vitamin E ve Se ile desteklenmiş ineklerde fagositoz, bakterilerin elimine edilmesi, meme bezindeki nötrofillerin artması yanında periferel kan dolaşımının antioksidatif kapasitesinin de yükseldiği gözlenmiştir (Grasso ve ark, 1990). Keçilerde yapılan bir araştırmada bu hayvanların özellikle selenyum eksikliğine duyarlı oldukları bildirilmiş eksikliğin kızgınlık, gebelik oranları, süt verimi ve doğan yavruların gelişimi üzerinde olumsuz etkilerinin olduğu belirtilmiştir (Anke ve ark, 1989).

Bazı vitamin ve mineral maddelerin antioksidan savunma mekanizmasında etkin rol oynadığı, bunların eksikliği ya da yokluğu durumlarında immun sistemin baskılandığı örneğin vitamin E ve  $\beta$ -karotenin bir antioksidan olarak immun savunma sisteminde ve dolayısıyla hayvanın sağlığında önemli görevleri olduğu bildirilmiştir. Bazı iz elementler antioksidan sistemle ilişkili enzimlerin fonksiyonları için gerekli iken bazıları ise antioksidan etkilerini immun sistem hücreleri üzerine etki etmek suretiyle gösterirler (Chew ve Park, 2004; Weiss ve Spears, 2006). Optimal antioksidan savunma mekanizması için gerekli esansiyel vitamin ve iz elementlerin vücutta azalması lökosit sayısı ve fonksiyonlarının azalmasına neden olabilmektedir (Suttle ve Jones, 1989; Bendich, 1993; Spears, 2000). Günümüzde çok sayıda antioksidan maddenin hayvan sağlığında önemli etkileri olduğu ispatlanmış ya da halen üzerinde çalışılmaktadır.

Organizmada serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı koruyucu etkisi birbirinden bağımsız veya bir arada çalışan altı farklı mekanizma ile sağlanmaktadır (Deveci, 2009).

1. Oksijen ile reaksiyona girerek veya oksijenin yerini alarak lokal oksijen konsantrasyonunu azaltabilme,
2. Hidroksil (OH) yapısında bulunan hidrojen ile bağ oluşturabilecek ürünleri temizleyerek peroksidasyonun başlamasını engelleyebilme,
3. Membran lipitlerini etkileyerek peroksit oluşturabilen singlet oksijeni ( $^1O_2$ ) baskılama ya da ortadan kaldırabilme,
4. Peroksitleri nonradikal ürünlere çevirebilme,
5. Metal iyonlarını bağlayarak, reaktif grupların ya da lipit peroksitlerden peroksil ve alkoksil radikallerinin oluşumunu önleyebilme,
6. Zincir oluşumuna neden olan serbest radikallerle reaksiyon girebilme ve yağ asidi zincirinden sürekli hidrojen iyonu salınımını önleyebilme.



Antioksidanlar endojen ve eksojen antioksidanlar olmak üzere iki gruba ayrılabilirdi gibi enzimatik ve non-enzimatik şekilde de sınıflandırılabilirler (Sezer ve Keskin, 2014). Enzimatik antioksidanlar; süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon transferaz, hidroperoksidaz, tioredoksin redüktaz, eozinofil peroksidaz, sitokrom oksidaz, oksijenaz-L ve nitrik oksidsintaz'dan oluşmaktadır. Non-enzimatik antioksidanlara ise askorbik asit (vitamin C),  $\alpha$ -tokoferol (Vitamin E), melatonin, taurin, hemogloblin, flavonoidler,  $\beta$ -karoten, metiyonin, sistein, koenzim Q-10, glutatyon (GSH), selenyum, manganez ve transferin örnek verilebilmektedir (Yerer ve Aydoğan, 2000; Sezer ve Keskin, 2014).

Organizmada reaktif oksijen türlerine karşı ilk savunma cevabı her hücre için esansiyel bir enzim olan süperoksit dismutaz enzimi ile şekillenmektedir. Bu enzim intraselüler olarak sitoplazma ve mitokondride bulunurken, ekstraselüler olarak ise heparan sülfatlara bağlı şekilde hücre yüzeyinde bulunmaktadır (Çaylak, 2011). SOD reaktif oksijen türlerinden süperokside bir elektron vererek radikali hidrojen peroksite indirger, katalaz ve GSH-Px de oluşan hidrojen peroksiti suya indirgeyerek savunma hattını tamamlar. Ayrıca SOD, CAT ve GSH-Px'ten farklı olarak serbest radikali substrat olarak kullanabilmektedir (Sugino, 2006).

Yapısında 4 adet hem grubu içeren katalaz, hayvansal organizmaların tüm hücre tiplerinde, özellikle de karaciğer ve eritrositlerin peroksizom adı verilen hücre organellerinde yoğun olarak bulunmaktadır. Hidrojen peroksidin ( $H_2O_2$ ) su ve moleküler oksijene dönüşümünü sağlamaktadır. CAT aktivitesi artmadan SOD aktivitesinin artması ortamda  $H_2O_2$  birikmesine ve böylece hidroksil radikallerinin oluşmasına neden olabilmektedir (Sugino, 2006; Çaylak, 2011; Alfonso-Prieto ve ark, 2012).

GSH-Px, hücrede esas olarak sitozol ve mitokondrilerde bulunmakta ve peroksizomlar dışında oluşan hidrojen peroksidin dismutasyonunda kullanılmaktadır (Sezer ve Keskin, 2014). GSH-Px hücrel oksidasyon-redüksiyon tepkimeleri sonucu meydana gelen serbest radikallerin hücrede membran hasarı oluşturmasını engellemektedir. Bu etkiyi hidroperoksitlerin ve lipid peroksitlerinin indirgenmesini katalize ederek gösterir. Plazma GSH-Px oksidatif stres indikatörü olarak kabul edilmektedir (Celi, 2011).

SOD maksimum etkinlik için bakır, çinko ve manganez; GSH-Px selenyum; katalaz ise demir gibi geçiş metallere kofaktörlüğüne ihtiyaç duymaktadır (Çaylak, 2011).

Glutatyon ( $\gamma$ -glutamylcysteinylglycine) vücutta tüm hücre tiplerinde bulunan, en çok karaciğerde sentezlenen bir tripeptittir. Düşük molekül ağırlıklı intrasellüler tiyol bileşiği olup, bütün hücre tiplerinde bulunmaktadır. Hücre içi redoks homeostazının regülatörü olarak

büyük bir kısmı indirgenmiş formda çekirdek, endoplazmik retikulum ve mitokondrilerde depolanır. Glutasyonun tiyol grubu (SH) oksidatif stres sonucu oluşan serbest radikallerin ortaklanmamış elektronlarına bağlanarak serbest radikal miktarını azaltmaktadır. Bunun yanı sıra GSH-Px ile birlikte enzimatik olarak da etki göstermektedir. GSH-Px, glutasyonu oksitleyerek hidrojen peroksiti suya indirgemektedir. Glutasyonun okside formunun (GSSG) tekrar GSH'ye indirgenmesi ise glutasyonredüktaz (GR) tarafından sağlamaktadır (Masella ve ark, 2005; Maher ve ark, 2008; Çaylak, 2011).

Vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol) özellikle biyolojik membranlarda predominant olarak bulunan bir antioksidan olup (Sordillo ve Aitken, 2009) ana fonksiyonu membran fosfolipitlerinin peroksidasyonu ve hücre membranlarının hasar görmesinin önlenmesidir (Çaylak, 2011). Vitamin E, tokoferoksil oluşumu ile bir H iyonunu serbest radikale transfer ederek lipit peroksidasyonunun başlatılmasını engelleyebilmektedir. Oluşan tokoferoksil radikali ise vitamin C tarafından indirgenmiş formuna geri döndürülmektedir (Blokina ve ark, 2003). Vitamin C suda çözünen bir antioksidan olup, hücrelerin redoks durumunun korunmasında anahtar rol oynamaktadır. Vitamin E'nin rejenarasyonunu sağlamanın yanında hidrojen peroksidin hidroksil radikaline çevrilmesinde de görev almaktadır (Sordillo ve Aitken, 2009). Vitamin A'nın öncüsü olan  $\beta$ -karoten de önemli bir antioksidandır.  $\beta$ -karotenin antioksidan etkisi singlet oksijeni yakalaması, serbest radikalleri temizlemesi ve hücre membranı lipitlerini oksidatif dejenarasyona karşı koruması şeklindedir (Çaylak, 2011).

## 2.7. Sıcak Stresi

İnekler üzerinde çevre koşullarının etkisi uzun yıllardır araştırılmaktadır. Süt sığırları için 13-18°C sıcaklık, %60-70 nem oranı ve 5-8 km/saat rüzgar hızı optimum çevre koşulları olarak tanımlanmaktadır. Optimum koşullarda ineklerin vücut sıcaklığı ortalama 38,5°C, nabızın 60-80/dakika ve solunumun 10-30/dakika olduğu belirtilmektedir (Hansen, 2007). İneklerde hava sıcaklığı 26,9-32,2°C ve nem oranının %50-90 olduğu çevre şartlarında sıcak stresinin şekillendiği bildirilmektedir (Fidler ve Van Devender, 2015). Başka bir çalışmada ise vücut sıcaklığının 39°C'yi aştığı, bununla birlikte solunum sayısının dakikada 80'in üzerine çıktığı hallerde sıcak stresinin başladığını ifade edilmiştir (Kirdeci, 2015).

Son yıllarda artan küresel sıcaklıklar ile birlikte süt ineklerinde sıcak stresi kaynaklı verim kaybı tüm dünyadaki olduğu gibi ülkemizde de önemli bir konu haline gelmiştir. Ülkemizde süt sığırı yetiştiriciliğinin sıklıkla yapıldığı ve çevre sıcaklıkları ve nem oranının

yıl boyunca yüksek olduğu Ege, Akdeniz ve Marmara bölgelerinde sıcak stresi etkileri daha sık ve yoğun bir şekilde görülmektedir (Dinçel ve Dikmen, 2013). Tarım ve Orman Bakanlığı Mayıs 2019 verilerine göre ülkemizde sağmal inek sayısının son 10 yılda artış gösterdiği belirtilmektedir (WEB\_1). Aydın ili süt ineği yetiştiriciliğinde önemli bir yere sahip olmasıyla birlikte sıcak stresi ile sıkça karşılan iller arasında yer almaktadır. Tarım ve Orman Bakanlığı Meteoroloji Genel Müdürlüğü verilerine göre Aydın ilinde ortalama en yüksek sıcaklığın aralık, ocak ve şubat aylarında ortalama 14°C, haziran, temmuz ve ağustos aylarında ise yaklaşık 35°C olduğu belirtilmiştir. Yaz döneminde aynı aylarda sıcaklığın 44°C'yi geçtiği gözlenmiştir (WEB\_2).

Çevresel faktörlerden solar radyasyon, ıslak ve kuru termometre sıcaklığı, nem oranı, rüzgâr hızı gibi faktörler sıcak stresinin şekillenmesinde büyük role sahiptir. Bununla birlikte söz konusu faktörler kullanılarak ineklerde sıcak stresinin düzeyinin belirlenmesi için “sıcaklık-nem indeksi” (SNİ) geliştirilmiştir. SNİ sıcaklık, nem gibi faktörler göz önüne alınarak hesaplanmakta, elde edilen değerler çerçevesinde sıcak stresinin düzeyi hakkında fikir sahibi olmaya çalışılmaktadır (Dikmen ve Hansen, 2009; Dinçel ve Dikmen, 2013). Buna göre ineklerde 72'den küçük SNİ değerlerinde stres şekillenmediği, 72-79 değerleri arasında sıcak stresinin başladığı, 80-89 değerleri arasında orta düzeyde stres meydana geldiği ve SNİ değerinin 90'nın üzerine çıktığı durumlarda ise ölümlerle dahi sonuçlanabilen aşırı stresin meydana geldiği belirtilmektedir (Armstrong, 1994; Gaughan ve ark, 2008; Kirdeci, 2015).

Süt ineklerinde sıcak stresine karşı oluşturdukları ilk tepkiler yem tüketiminde ve buna bağlı olarak da süt verimindeki azalmadır. Yüksek verime sahip olan hayvanlarda fazla metabolik aktivite nedeniyle daha fazla ısı üretimi şekillenmekte ve dolayısıyla sıcak stresinden daha çabuk etkilenmektedirler. Günlük süt ortalaması 30 kg'dan fazla olan ineklerde 25°C'nin üzerinde iştahta azalmalar şekillenirken, 30°C'nin üzerinde yem tüketiminde belirgin bir düşme ve 40°C'nin üzerinde ise yem tüketiminin tamamen durduğu gözlemlenmektedir (Topuzoğlu ve Baştan, 2010; Alkoyak ve Çetin; 2016). Bazı araştırmacılar hava sıcaklığının 26°C'nin üzerinde seyrettiği durumlarda kuru madde tüketiminin azaldığını, yem tüketiminin konfor bölgedekilere kıyasla 30°C'de %90'a, 32°C'de %75'e, 40°C'de ise %67'ye düştüğünü ifade etmektedir (Berman ve ark, 1985; McGuire ve ark, 1991). Yem tüketiminin azalmasında termoregülasyonun sağlanamaması, sıcaklık ile artış gösteren solunum sayısının yem yemeyi engellemesi ve gölge arama gibi davranışlarda meydana gelen değişimler ile hayvanların yem kaynaklarından uzaklaşması etkili olmaktadır (Özhan ve ark, 2001; Alkoyak ve Çetin; 2016).

Sıcak stresi ile birlikte artan vücut sıcaklığı sonucu tükürük salgısı ve geviş getirme azalmakta, solunum ve terleme oranları yükselmekte, hayvanlar yatmak yerine ayakta beklemekte ve su tüketiminde önemli bir artış meydana gelmektedir (Hansen, 2007). Aynı zamanda kanın deriye doğrudan akışı artarken, iç organlara ve meme bezlerine gidişi azalmaktadır (Seaward, 2014). Çevre sıcaklığı ile hayvanın vücut sıcaklığı benzer düzeylere geldiğinde kaba yem tüketiminde ve sindirim sistemi hareketlerinde büyük oranda azalmalar şekillenmektedir. Sıcak stresinin sürmesi ile birlikte rumen pH'sı düşmekte, su içeriği ise yükselmekte ve bu durum rumen sıvısının osmotik basıncının düşmesi ile sonuçlanmaktadır. Rumen sıvısında özellikle sodyum ve potasyum miktarı azalmakta, bu durum idrarla sodyum, deri ile de potasyum kaybına neden olmanın yanı sıra plazmada aldosteron düzeyinin azalmasına, prolaktin düzeyinin artmasına sebebiyet vermektedir. Stres sonucu şekillenen bu metabolik değişimler sonucu enerji gereksinimi ve su tüketimi artarken, yem tüketimi azalmaktadır (Özhan ve ark, 2001; Kumar ve ark, 2011; Üstün, 2011; Alkoyak ve Çetin; 2016).

Sıcak stresi aşırı miktarda ROS üretimine neden olarak ya da antioksidan savunma mekanizmasını bozarak oksidatif strese neden olmaktadır. Artan ROS miktarı sonucu lipid peroksidasyonu, DNA hasarı ve proteinlerin oksidatif modifikasyonu şekillenebilmektedir. Antioksidan kapasitenin yeterli olduğu hayvanlarda enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar ile ROS miktarı kontrol altında tutulabilirken, antioksidan kapasitenin yetersiz kaldığı hallerde artan lipid peroksidasyonu ile doğru orantılı olarak MDA seviyesinin de yükseldiği görülmüştür (Kumar ve ark, 2011). Bernabucci ve ark (2002) ile Yatoo ve ark (2014) yaz döneminde ineklerde antioksidan parametrelerinin sıcak stresine bağlı olarak belirgin bir şekilde yükseldiğini ifade etmiştir. Aynı zamanda stres durumunda ortamda artan süperoksit radikalini temizlemek için SOD enzim aktivitesinin arttığı, SOD aktivitesi ile ilişkili olarak GSH-Px aktivitesinin de artış gösterdiği belirtilmektedir (Ganaie ve ark, 2013).

Sıcak stresinin reproduktif sistem antioksidasyon metabolizması üzerinde yarattığı olumsuz durum yaz aylarında tohumlanan sütçü ineklerde döl verim performansındaki düşüşlerin en önemli faktörü olarak gösterilmektedir. Kış aylarıyla karşılaştırıldığında yaz döneminde gebelik oranları %20-30 oranında azalmaktadır. Sıcak stresindeki süt ineklerinde östrus tespiti güçleştiğinden doğum-ilk tohumlama arasındaki sürenin de uzun olduğu görülmektedir (Wolfenson ve ark, 2000; De Rensis ve Scaramuzzi, 2003).

Etki mekanizması tam olarak açıklanamamakla birlikte sıcak stresi şekillenen ineklerde LH düzeyinde düşme görülmekte, dolayısıyla dominant foliküller yetersiz LH şartlarında geliştiğinden beklenen östradiol düzeyinden daha az östradiol salınmaktadır (De

Rensis ve Scaramuzzi, 2003). Bu düşük östradiol düzeyine bağlı olarak da motor aktivitelerde azalma olmakta, östrus semptomları belirgin olarak gözlenememekte, östrusun süresinde azalmaya neden olmakta, anöstrus olguları ile sakin ovulasyon oranlarında da artış meydana gelmektedir (Roth ve ark, 2000).

Erken embriyonik gelişim sırasında sıcak ve oksidatif stres arasında yakın bir ilişki olduğu bilinmektedir. Glutasyon, termotoleransı arttırıp, embriyoda intraselüler redoks durumunu koruyarak, embriyonun gelişimi üzerine olumlu etki göstermektedir. Bu nedenle hem *in-vivo* hem de *in-vitro* intraselüler ve ekstraselüler redoks durumunu kontrol etmek için antioksidan kullanmak, sıcak stresine bağlı oksidatif stresin azaltılmasında en etkin yol olarak kabul edilmektedir (Takahashi, 2012).

Antioksidan savunma sisteminin dışarıdan desteklenmesi biyolojik moleküllerin oksidatif zararını engelleyerek sıcak stresinin neden olduğu verim ve performans kayıplarını engelleyebilmektedir. Örneğin koyunların rasyonlarına ilave edilecek vitamin E ve Se yem alımı, solunum fizyolojisi, rektal ısı, vücut termoregülasyonu, asit-baz dengesi gibi birçok fizyolojik durumu dengelemesi yanında oksidatif stresi de engellediği görülmüştür (Chauhan ve ark, 2014a; Chauhan ve ark, 2014b). Rutigliano ve ark (2008) ile Calamari ve ark (2011) ineklerin rasyonlarına eklenen Se'nin GSH-Px seviyesini yükselttiğini, plazmada tiyobarbütirik asit seviyesini düşürdüğünü bildirmişlerdir.

Sıcak stresi hipotalamus-hipofiz-ovaryum eksenini üzerine etkisi ile de reproduktif parametrelerde değişikliklere neden olmaktadır. Bilindiği üzere ovaryum aktivitesi gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH), luteinize hormon (LH) ve folikül stimulan hormon (FSH) tarafından düzenlenmektedir. Plazma östrojen konsantrasyonu düşük olduğu durumlarda gonadotropin sekresyonunu kontrol eden nöroendokrin mekanizma sıcak stresine daha da duyarlıdır (Gilad ve ark 1993).

FSH sentezi ve salınımı östradiol ve inhibin tarafından düzenlenmektedir. Bununla birlikte teka ve granuloza hücrelerinin sıcak stresine duyarlı olmalarından dolayı foliküllerdeki östradiol ve inhibin konsantrasyonu düşmektedir. Östradiol seviyesinin düşük olması ovulasyon için gereken LH pikinin şekillenmemesine, inhibin düzeyinin az olması ise hipofizde sürekli FSH salınmasına neden olmaktadır. Sıcak stresi nedeniyle FSH yüksek olmasına rağmen östradiol seviyesinin düşük seyretmesi östrusta gecikmelere neden olmaktadır. Ayrıca FSH düzeyinin yüksek olması dominant folikülünün etkinliğini azaltmakta, bununla birlikte endometriyumda az sayıda oksitosin reseptörünün oluşmasına ve luteolizisin gecikmesine neden olmaktadır (Roth ve ark, 2000; Wolfenson ve ark, 2000; Samal, 2013; Naseer ve ark, 2017).

Sıcak stresine bağı olarak kortikosteroid salınımı artış göstermektedir. Artan kortikosteroid düzeyi GnRH salınımını inhibe ederek LH sekresyonunu azalmasına neden olmaktadır (De Rensis ve Scaramuzzi, 2003). Bununla birlikte yapılan bir çalışmada östradiol düzeyi düşük ineklerde şekillenen sıcak stresinin gonadotropinleri daha çok inhibe ettiği tespit edilmiştir (Gilad ve ark, 1993). Sonuç olarak gonadotropin sekresyonunu kontrol eden nöroendokrin mekanizma plazma östradiol düzeyinin düşük olduğu durumlarda strese daha duyarlı hale gelmektedir. Wolfenson ve ark (1997) tarafından yapılan çalışmada ise sıcak stresinin ovaryumları direkt etkileyerek gonadotrop hormonlarca uyarılma yeteneğini azalttığı bildirilmiştir.

### **2.7.1. Sıcak Stresinin Foliküler Gelişim Üzerine Etkisi**

Sıcak stresi foliküler seleksiyonunun gecikmesine, foliküler dalgaların uzamasına ve buna bağı olarak oositin kalitesi ve folikülerstroidogenezis üzerine olumsuz etkilere neden olmaktadır. Ayrıca bu stres durumu dominant folikülün etkinliğini azaltarak orta büyüklükte foliküllerin oluşmasına yol açmakta, preovülatorik folikülün dominantlık dönemi uzamaktadır (Roth ve ark, 2001b). Bu durum plazma immün reaktif inhibin konsantrasyonunun azalması ile ilişkilidir (De Rensis ve Scaramuzzi, 2003).

Sıcak stresi orta büyüklükteki foliküllerde düşük düzeyde östradiol üretimine ve preovülator foliküllerde granuloza hücrelerinin yaşama oranlarının azalmasına neden olmaktadır. Dolayısıyla oosit kalitesi ve embriyo gelişimi olumsuz etkilenmektedir (Roth ve ark, 2001a). Wolfenson ve ark (1995) sıcak stresi kaynaklı foliküllerde meydana gelen değişikliklerin iki önemli sonucu olduğunu bildirmişlerdir. İlki, 2. foliküler dalgaının dominant folikülünün erken ortaya çıkması ve ovule olması halinde östrus ve ovulasyon zamanının değişmesi nedeniyle yaşlı folikülün ovule olmasıdır. İkincisi ise inhibin konsantrasyonunun düşük kalması sonucu FSH salınımı baskılanamadığından 1. foliküler dalga sırasında dominant folikül etkinliğini kaybetmekte ve sub-ordinal foliküler gelişimine devam etmektedir. Dolayısıyla dominant folikülün beklenen gelişimi olumsuz etkilenmektedir.

Ovulasyon aşamasındaki folikül, ovulasyondan 40-50 gün önce gelişimine başlamakta, dolayısıyla bu dönemde şekillenen sıcak stresi nedeniyle foliküler gelişim ve steroid üretim kapasiteleri olumsuz etkilenebilmektedir. Söz konusu etki inekler artık sıcak stresine maruz kalmasa bile 30-60 gün sonra ortaya çıkabilmektedir. Bu durumun sıcak stresine maruz kalınan dönemde dominant folikül halini alacak antral foliküllerin etkilenmesine bağı

şekillendiği düşünölmektedir (Roth ve ark, 2000; Roth ve ark, 2001a; Wolfenson ve ark 2002).

### **2.7.2. Sıcak Stresinin Gamet ve Embriyolar Üzerine Etkisi**

Sıcak stresinin fertilité üzerine etkisinin, ovaryumlardaki artan sıcaklığın oosit kalitesi üzerine olan olumsuz etkisine bağlı olabileceği bildirilmiştir (Roth ve ark, 2001a; De Rensis ve Scaramuzzi, 2003).

Sıcak stresi olan ineklerde genel vücut ısısı arttığından uterin ısıda da artış şekillenmektedir. Meydana gelen bu değişiklikler konsepsiyon oranını düşürmekte, embriyonik gelişimi inhibe etmekte ve erken embriyonik ölümlerin oranını arttırmaktadır (Rivera ve Hansen, 2001). Yüksek ortam ısısı implantasyon öncesi embriyoyu olumsuz etkilerken, embriyo büyüdükçe bu etki azalmaktadır. Ayrıca bu dönemde sıcak stresi endometriyumdan prostaglandin salınımını arttırmakta prematüre luteolizise, dolayısıyla da embriyonik ölümlere neden olmaktadır. Genellikle sıcak stresindeki ineklerde erken embriyonik ölümlerin 42. günden önce şekillendiği bildirilmiştir (De Rensis ve Scaramuzzi, 2003).

Bu çalışmada kış ve yaz dönemlerinde sütçü ineklerin rasyonlarına eklenen organik selenyumun kısa süreli ve dolayısı ile ekonomik bir beslenme stratejisi uygulanarak kandaki bazı oksidatif stres parametleri ve gebelik oranları üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1. Gereç

Bu araştırmada Aydın ilinde kurulu, düzgün kayıt sisteminin tutulduğu bir süt sığırcılığı çiftliğinde aynı bakım ve besleme koşullarında bulunan Holstein ırkı ineklerden yararlanılmıştır. Çalışmada kış dönemi için 60 ve yaz dönemi için 60 olmak üzere toplam 120 adet sütçü inek kullanılmış, bu hayvanlar herbir dönem için biri kontrol olmak üzere 4'er gruba ayrılmıştır.

Araştırmada kullanılan hayvanların belirlenip, deney ve kontrol gruplarının oluşturulmasında yaş ve doğum sayısı gibi fertilitiyi etkileyen değişkenlerle, tohumlama indekslerinin mümkün olduğunca dengeli olmasına dikkat edilmiştir. Araştırmanın ilk denemeleri yaz (haziran-temmuz-ağustos) aylarında, ikinci denemeleri ise kış (aralık-ocak-şubat) aylarında yapılmıştır.

Araştırmanın ilk denemeleri yaz döneminde 10.07.2014 ile 08.09.2014 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir. Tarım ve Orman Bakanlığı Meteoroloji Genel Müdürlüğü verilerine göre deneme kapsamında kan örneklerinin alındığı günlerden 10.07.2014 tarihinde hava sıcaklığı gündüz ortalama 37°C ve nem %92, 19.08.2014 tarihinde hava sıcaklığı gündüz ortalama 35°C ve nem %87, 08.09.2014 tarihinde hava sıcaklığı gündüz ortalama 30°C ve nem %83 olarak kaydedilmiştir. Kış döneminde yapılan ikinci deneme ise 25.12.2014 ile 23.02.2015 tarihleri arasında yapılmıştır. Bu deneme döneminde 25.12.2014 tarihinde hava sıcaklığı gündüz ortalama 18°C ve nem %45, 03.02.2015 tarihinde hava sıcaklığı gündüz ortalama 15 °C ve nem %37, 23.02.2015 tarihinde hava sıcaklığı gündüz ortalama 14°C ve nem %35 olarak kayıtlara geçmiştir.

Araştırmada rasyona selenyum katkısı için piyasada satılan ve organik Se ihtiva eden Sel-Plex1000 (Alltech Biotechnology, ABD) kullanılmıştır.

Araştırma başlamadan önce Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 19.09.2013 tarihli 64583101/2013/078 sayılı yazısı ile çalışmanın yapılmasında etik açıdan sakınca bulunmadığına dair izin alınmıştır.



### 3.1.1. Beslenme Programı

Kontrol grubunda (K) (n=15) bulunan hayvanların günlük rasyonlarına herhangi bir ilave yapılmadan beslenmeleri sağlanırken, piyasada satılan içeriğinde organik selenyum bulunan yem katkı maddesinden 1. gruba (n=15) 3 g, 2. gruba (n=15) 6 g, 3. gruba (n=15) da 12 g günlük rasyonlarına ilave edilmiştir.

Organik selenyum ilavesi deneme gruplarının rasyonlarına bireysel kilitler kapalıyken yemliğe konulması suretiyle yapılmıştır. Ardından kilitler açılarak hayvanların kilide girmelerine ve rasyonu yemelerine izin verilmiş, uygulanan selenyum yem karışımının en üstünde yer aldığından ilk hamlede hayvanların ilave edilen selenyumunu alması sağlanmıştır.

Rasyonlarda yapılan bu uygulama planlanan suni tohumlamadan önceki 40 ve tohumlama sonrası 20 gün olmak üzere toplam 60 gün sürdürülmüştür. Bu sürenin belirlenmesinde hayvanın gebeliğe hazırlandığı yaklaşık iki siklus süresiyle, şekillenen olası gebeliğin ve embriyonun implantasyonun meydana geldiği dönemi kapsayacak yaklaşık bir siklus süresidikkate alınmıştır. Araştırmanın hem yaz hem de kış dönemi için her grupta bulunan hayvanlardan uygulama başlangıcında (0. gün), uygulamanın 40. ve 60. günlerinde olmak üzere toplam 3 kez kan örnekleri alınmıştır.

### 3.1.2. Senkronizasyon Programı ve Suni Tohumlama

Suni tohumlama amacıyla hayvanlara yaygın bir kullanım alanı olan ovsynch protokolü uygulanmıştır. Protokol kapsamında ineklere 0. gün GnRH hormonu (50 µg/ml gonadorelin diasetat tetrahidrat, Ovarelin®), 7. gün PGF<sub>2α</sub> (0,075 mg/ml D-Kloprostenol, Dalmazin®) ve 9. gün ikinci GnRH kas içi yolla enjekte edilmiştir. Kontrol grubu dahil bütün gruplarda bulunan hayvanlar son GnRH hormonu uygulamasından 16 saat sonra dondurulmuş sperma ile rekto-vajinal yolla tohumlanmıştır.

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Biyokimyasal Analizler

Araştırmada kan örnekleri kontrol ve deneme gruplarındaki ineklerin kuyruklarında bulunan *Vena Coccygea*'dan heparinli tüpler kullanılarak alınmıştır. Elde edilen plazma

örneklerinde malondialdehit (MDA) düzeyleri zaman kaybetmeden hemen ölçülmüştür. Plazma örnekleri elde edilirken GSH ve GSH-Px enzim aktivitesinin belirlenmesi için eritrositler ayrılmış ve fosfat tamponlu tuz çözeltisi (Phosphate Buffered Saline-PBS) içerisinde analizler gerçekleştirilinceye kadar -20°C'de saklanmıştır. Biyokimyasal analizler Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarları ve Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Merkez Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

### **3.2.1.1. Plazma malondialdehit (MDA) düzeyinin belirlenmesi**

Plazma MDA düzeyinin belirlenmesinde Yoshiko ve ark (1979) tarafından bildirilen lipit peroksidasyon ölçüm yöntemi kullanılmıştır. Kullanılan yöntem tiyobarbütirik asit (TBA) varlığında MDA'nın düşük pH'da ve sıcak ortam şartlarında tepkimesi sonucu meydana gelen stabil pembe renkli pigmentin spektrofotometrik ölçümü prensibine dayanmaktadır.

Kontrol ve deneme grubundaki ineklerden heparinli tüplere alınan kan örnekleri 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj (NF800R, Nüve, Türkiye) edilmiş ve üstteki plazma otomatik pipet yardımıyla ependorf tüplerine aktarılmıştır.

Plazma MDA düzeyinin belirlenmesi amacıyla vida kapaklı deney tüplerine 250 µl plazma örneklerinden konulmuş, üzerine 1,25 ml trikloroasetik asitin (TCAA) (27242, Sigma-Aldrich) %10'luk çözeltisinden ilave edilip karıştırılmıştır. Karıştırma işleminin takibinde tüplere %0,67'lik tiyobarbütirik asit (TBA) (108180, Merck) çözeltisinden 0,5'er ml eklenmiştir. Kör örnek ise deney tüpüne 1,5 ml %10'luk TCAA ve 0,5 ml %0,67'lik TBA çözeltisi konularak hazırlanmıştır. Tüpler kapatılarak 95°C'lik su banyosunda 30 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından tüpler su altında soğutulmuştur. Soğuyan tüplerin üzerine 2 ml n-butanol (537993, Sigma-Aldrich) eklenmiş, 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüjün ardından meydana gelen üstteki fazın spektrofotometrede (UV1601 Shimadzu Corporation, Avustralya) 535 nm dalga boyunda köre karşı absorbansı okunmuştur.

Standart olarak 1,1,3,3-tetraetoksipropan (805797, Merck) kullanılmış ve sonuçlar µmol/l olarak hesaplanmıştır.

### 3.2.1.2. Eritrosit hemolizatlarının hazırlanması

Enzim analizinde kullanılmak üzere eritrositlerin hazırlanmasında Winterbourn (1975) tarafından bildirilen yöntem kullanılmıştır.

Heparinli tüplerde bulunan kan örnekleri 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiş, santrifüj sonrası üstte bulunan plazma ve lökosit tabakası otomatik pipet yardımıyla uzaklaştırılmıştır. Takibinde tüplerin dibinde çökmüş olarak bulunan eritrositler pastör pipeti kullanılarak pH'sı 7,4 olan soğuk PBS ile üç kez yıkanmıştır. Örnekler her yıkamanın sonunda 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Üçüncü yıkama ve santrifüjün ardından tüplerde kalan eritrositlerden otomatik pipet yardımıyla 0,4 ml alınarak 1,5 ml hacmindeki ependorf tüplerine konulmuştur. Daha sonra ependorf tüplerindeki eritrosit örneklerinin üzerine 0,4 ml PBS ilave edilmiş, tüpler alt üst edilip eritrositler ile PBS çözeltisinin homojenizasyonu sağlanmıştır. Hazırlanan örnekler analizler yapılincaya kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

### 3.2.1.3. Eritrosit hemolizatlarında hemoglobin düzeyinin belirlenmesi

Enzim aktivitelerinin hesaplanmasında hemoglobin (Hb) düzeyleri kullanılmıştır. Örneklerin hemoglobin düzeyleri ferrosiyanomethemoglobin yöntemi kullanılarak belirlenmiştir (Tietz, 1987). Ferrosiyanomethemoglobin yönteminin prensibi; hemoglobinde bulunan  $Fe^{+2}$ , ferrisiyanür ile tepkimeye girerek  $Fe^{+3}$ 'e oksitlenir ve potasyum siyanür ilavesiyle stabil siyanomethemoglobine dönüşmekte ve oluşan siyanomethemoglobinin 540 nm dalga boyunda ölçülen absorbansının hemoglobin konsantrasyonu ile doğru orantılı olmasına dayanmaktadır.

Hemoglobin düzeyinin belirlenmesi amacıyla 0,198 g potasyum ferrisiyanür ( $K_3Fe(CN)_6$ , 104971, Merck), 0,052 g potasyum siyanür (KCN, 104965, Merck), 1 g sodyum hidrojen karbonatın ( $NaHCO_3$ , 106323, Merck) bir litre distile suda çözdürülerek Drabkin çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltiden deney tüpüne 5 ml aktarılmış, üzerine 20µl hemolizat ilave edildikten sonra tüp iyice karıştırılmış ve 10 dakika bekletilmiştir. Bekleme süresinin ardından örnekler Drabkin çözeltisine karşı spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda okunmuştur.

Spektrofotometrede tespit edilen absorbansların karşılık geldiği hemoglobin konsantrasyonları aşağıdaki formülde belirtildiği şekilde hesaplanmıştır.

$$\text{Hb konsantrasyonu (g/dl)} = \frac{\text{Absorbans x Hb standardının konsantrasyonu x Dilüsyon faktörü}}{\text{Hb standardının absorbansı x 1000}}$$

#### 3.2.1.4. Eritrosit hemolizatlarında glutatyon (GSH) düzeyinin belirlenmesi

Araştırmada eritrosit hemolizatında GSH düzeyi Beutler ve ark (1963) tarafından bildirilen klasik DTNB yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Yöntemin prensibi -SH grubu taşımayan proteinlerin çöktürülmesi sonucu oluşan berrak sıvıda, -SH gruplarının DTNB ile oluşturduğu sarı renkli kompleksin 412 nm dalga boyunda kolorimetrik olarak ölçümüne dayanmaktadır.

Analiz için kör, standart ve örnek tüpü olmak üzere 3 tüp hazırlanmış olup, standart tüpe 200 µl standart, örnek tüpüne 200 µl örnek konulmasının ardından her iki tüpe de 1,8 ml saf su ve 3 ml presipitasyon solüsyonu [1,67 g Metafosforik asit (M6288, Sigma-Aldrich), 0,2 g EDTA (108454, Merck), 30 g NaCl (106404, Merck), 100 ml distile su] ilave edilmiştir. Kör tüpe de 0,4 ml distile su ve 0,6 ml presipitasyon solüsyonu eklenmiştir. Hazırlanan karışımlara süzme işleminin uygulanmasından sonra elde edilen süzüntüden 1 ml süpernatant alınarak başka bir tüpe aktarılmıştır. Süpernatantın üzerine 4 ml fosfat solüsyonu (0,3 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) ile birlikte 0,5 ml DTNB (5-5'-dithiobis (2-nitrobenzoik asit), D8130, Sigma-Aldrich) ilave edilip 412 nm dalga boyunda okunmuştur.

Spektrofotometrede belirlenen absorbansların karşılık geldiği GSH düzeyleri aşağıdaki formülde belirtildiği şekilde hesaplanmıştır.

$$\text{GSH düzeyi (µmol/gHb)} = (\text{Örnek Absorbansı x 40mg}) / \text{Hb. Absorbansı x St. Absorbansı}$$

#### 3.2.1.5. Eritrosit hemolizatlarında glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesinin belirlenmesi

GSH-Px aktivitesinin belirlenmesinde Kakkar ve ark (1998) tarafından bildirilen yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Yöntemde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> varlığında redükte GSH'ın GSH-Px tarafından okside glutatyon (GSSG) dönüştürülmekte ve GSSG'nin glutatyon redüktaz enzimi (GR) ile tekrar GSH'a dönüştürülmesi sırasında ortamdaki indirgenmiş NADPH kullanılmaktadır. Kullanılanıma bağlı olarak NADPH'de meydana gelen oksidasyon 340 nm

dalga boyundaki absorbansı düşürmekte ve bu absorbans farkı ile GSH-Px aktivitesi tespit edilmektedir.

GSH-Px aktivitesinin belirlenmesi için temiz bir tüpe 75 mmol fosfat tamponundan 2 ml, 60 mmol GSH'den 50 µl, 30 U/ml GR'den 0,1 ml, 15 mmol Na<sub>2</sub>EDTA'dan 0,1 ml ve 3 mmol NADPH 0,1 ml aktarılmış, üzerine dilüe edilmiş eritrosit hemolizatından ilave edilerek toplam hacim 3 ml'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan bu karışım spektrofotometre küvetine aktarılıp, 7,5 mmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'den 0,1 eklentikten sonra NADPH'daki absorbansın azalması 340 nm'de izlenmiştir. Non enzimatik reaksiyon hızı kör örnek ile hesaplanmış ve sonuçlar U/g Hb olarak verilmiştir.

Absorbans farkı ( $\Delta_{340}/dk$ ) = (A<sub>340</sub> Zaman 1 - A<sub>340</sub> Zaman 2) / Zaman 2 (dk) - Zaman 1 (dk)

$$\text{GSH-Px aktivitesi} = \frac{\text{Absorbans farkı} \times 8039 \times \text{Dilüsyon faktörü}}{\text{U/g Hb} \times \text{Hb konstanstrasyonu} \times 1000}$$

### 3.2.2. Gebeliklerin Kontrolü

Araştırma kapsamında suni tohumlama uygulanan hayvanlarda gebelikler transrektal ultrasonografi yöntemi (WED-3000V, WELLD, Çin) kullanılarak tohumlamadan 4 hafta sonra belirlenmiştir.

### 3.2.3. İstatistiksel Analizler

Elde edilen bulguların istatistiksel analizleri SPSS<sup>®</sup>22.0 (Statistical Package for the Social Sciences) programı aracılığıyla gerçekleştirilmiştir.

MDA, GSH, GPx değerlerinin normal dağılım gösterip göstermediği Shapiro-Wilk Testi ile saptanmıştır. Varyansların homojen olup olmadığı ise Levene Testi aracılığıyla tespit edilmiştir. Normal dağılım göstermeyen grup ortalamalarının istatistiksel değerlendirmesi için parametrik olmayan testler kullanılmıştır. Grup ortalamaları standart hata değerleri ile birlikte sunulmuştur. MDA ve GSH verilerinin 40. ve 60. gün değerlerinin yaz ve kış ortalamaları arasındaki farkı ile GPx verilerinin 40. gün değerlerinin yaz ve kış ortalamaları arasındaki farkı belirlenmesi için Mann Whitney-U Testi yapılmıştır. Kontrol, 1. Grup, 2. Grup ve 3.

Grup ortalamaları arası farkın belirlenmesi için ise yaz ve kış ayları ayrı ayrı analize alınmış ve istatistiksel anlamda fark olup olmadığı Kruskal Wallis Varyans Analizi ile belirlenmiştir. MDAve GSH yaz ve kış ayları verileri ile GPx yaz ayları verilerinin 0. gün, 40. gün ve 60. gün ortalamaları arasında grup içi farklılığın belirlenmesi için ise Friedman tekrarlayan ölçümler için varyans analizi yapılmıştır. GPx kış ayları verilerinin 0 ve 40. gün ortalamaları arasında grup içi farklılığın belirlenmesinde Wilcoxon testi uygulanmıştır. Gebelik oranları bakımından her bir grubun yaz ve kış ayları oranları arasında fark bulup bulunmadığı Ki-kare testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi  $P<0,05$  olarak belirlenmiştir.



## 4. BULGULAR

Araştırma kapsamında sütçü ineklerin rasyonları farklı miktarlarda organik selenyum ile tohumlama öncesi 40 ve tohumlama sonrası 20 olmak üzere toplam 60 gün süreyle desteklenmiştir. Tüm hayvanlardan 0, 40 ve 60. günlerinde kan örnekleri alınarak malondialdehit (MDA) düzeyleri  $\mu\text{mol/l}$ , glutatyon (GSH) düzeyleri  $\mu\text{mol/g Hb}$  ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) düzeyleri U/g Hb ve tohumlamadan 4 hafta sonra gebelikleri % olarak belirlenmiştir.

### 4.1. Plazma MDA Düzeyleri

Çalışmada lipid peroksidasyon seviyesini belirlemek amacıyla plazma MDA düzeyi araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucu yaz döneminde 40. gün bulgularının kontrol grubuna göre önemli oranlarda arttığı, en yüksek farkın ( $P>0,001$ ) 2. grupta olduğu, 1. ve 3. gruplarda ise farkın ( $P>0,01$ ) olduğu görülmüştür. 60. gün bulgularının kontrol grubu ile karşılaştırılmasında ise sadece 2. grupta gözlenen yükseliş istatistiksel anlamda önemli bulunmuştur. Kış döneminde ise MDA düzeyleri arasında istatistiksel anlamda herhangi bir fark bulunmamıştır.

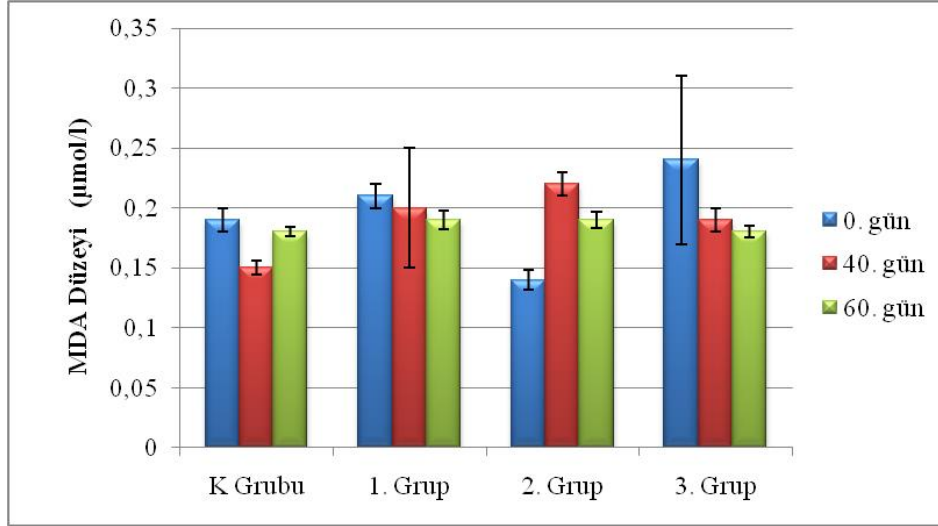
Yaz ve kış dönemlerinde grupların ortalama MDA düzeyleri Tablo 4 ve Tablo 5'te gösterilmiştir. Yaz ve kış dönemlerinde çalışma gruplarına ait MDA değişimleri de Şekil 1 ve Şekil 2'de belirtilmiştir.

**Tablo 4.** Yaz döneminde MDA düzeyleri ( $\mu\text{mol/l}$ ) ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ ).

Gruplar	n	YAZ			Önemlilik
		0. gün	40. gün	60. gün	
K Grubu	15	0,19 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,15 $\pm$ 0,006 <sup>b</sup>	0,18 $\pm$ 0,004 <sup>a</sup>	**
1. Grup	15	0,21 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,20 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>	0,19 $\pm$ 0,008 <sup>a</sup>	**
2. Grup	15	0,14 $\pm$ 0,008 <sup>b</sup>	0,22 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,19 $\pm$ 0,007 <sup>a</sup>	***
3. Grup	15	0,24 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>	0,26 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,18 $\pm$ 0,005 <sup>b</sup>	**

\*\*\*:  $P<0,001$ , \*\*:  $P<0,01$

a, b: Aynı satırda farklı harf taşıyan grup ortalamaları arasında istatistiksel anlamda fark vardır ( $P<0,05$ ).

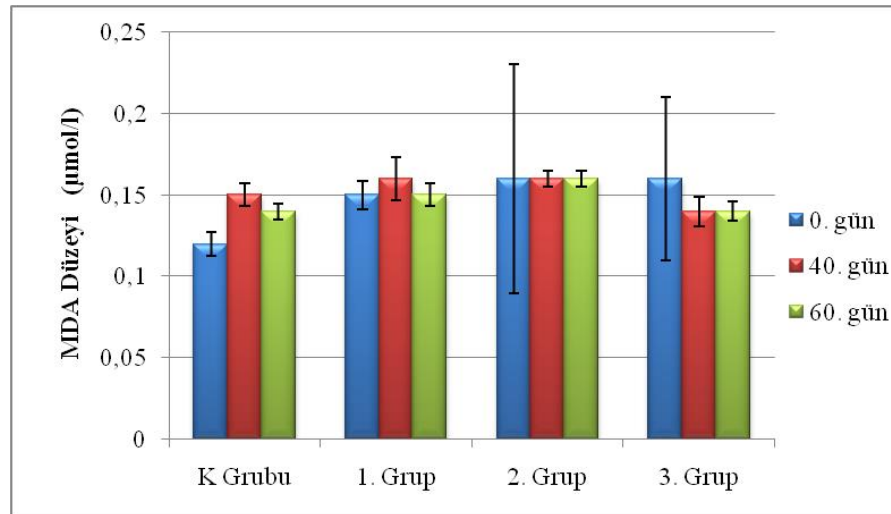


Şekil 1. Yaz döneminde MDA değişimleri.

Tablo 5. Kış döneminde MDA düzeyleri (µmol/l) ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ ).

Gruplar	n	KİŞ			Önemlilik
		0. gün	40. gün	60. gün	
K Grubu	15	0,12 ± 0,007	0,15 ± 0,007	0,14 ± 0,005	ÖD
1. Grup	15	0,15 ± 0,009	0,16 ± 0,013	0,15 ± 0,007	ÖD
2. Grup	15	0,16 ± 0,07	0,16 ± 0,005	0,16 ± 0,005	ÖD
3. Grup	15	0,16 ± 0,05	0,14 ± 0,009	0,14 ± 0,006	ÖD

ÖD: Önemli değil



Şekil 2. Kış döneminde MDA değişimleri.



## 4.2. GSH Düzeyleri

Çalışmada çeşitli oranlarda kullanılan Se takviyesinin yaz ve kış dönemlerinde farklı günlerde hücrel bir antioksidan olan GSH düzeyine etkisi incelenmiştir.

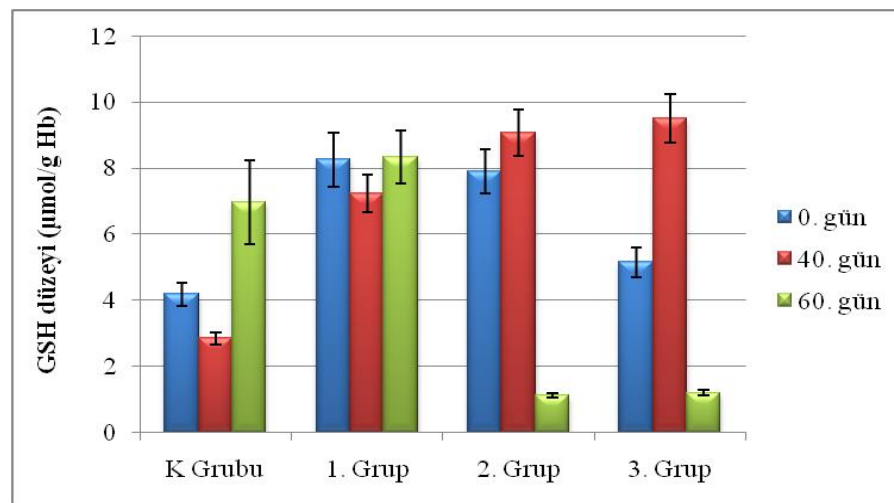
Yaz döneminde K grubunda GSH düzeylerinde 40. gün düşüş, sonrasında ise artış gözlenmiştir. Bu düşüş ve yükselişlerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ( $P<0,01$ ) görülmüştür. Bununla birlikte yaz döneminde 2. ve 3. grupta 0. ve 40. gün elde edilen GSH düzeyleri arasında istatistiksel açıdan fark ( $P>0,05$ ) olmamasına rağmen 60. gün düzeylerinin anlamlı ( $P<0,001$ ) şekilde düştüğü belirlenmiştir. Yaz döneminde en düşük verilerin 2. ve 3. grupta 60. günde olduğu görülmektedir. Yaz döneminde grupların ortalama GSH düzeyleri Tablo 6’da, GSH değişimleri ise Şekil 3’te belirtilmiştir.

**Tablo 6.** Yaz döneminde GSH düzeyleri ( $\mu\text{mol/g Hb}$ ) ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ ).

Gruplar	n	YAZ			Önemlilik
		0. gün	40. gün	60. gün	
K Grubu	15	4,18 $\pm$ 0,36 <sup>a</sup>	2,85 $\pm$ 0,18 <sup>b</sup>	6,97 $\pm$ 1,27 <sup>a</sup>	**
1. Grup	15	8,26 $\pm$ 0,82	7,24 $\pm$ 0,56	8,33 $\pm$ 0,81	ÖD
2. Grup	15	7,90 $\pm$ 0,66 <sup>a</sup>	9,07 $\pm$ 0,70 <sup>a</sup>	1,13 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>	***
3. Grup	15	5,16 $\pm$ 0,45 <sup>a</sup>	9,51 $\pm$ 0,74 <sup>a</sup>	1,20 $\pm$ 0,08 <sup>b</sup>	***

\*\*\*:  $P<0,001$ , \*\*:  $P<0,01$ , ÖD: Önemli değil

a, b: Aynı satırda farklı harf taşıyan grup ortalamaları arasında istatistiksel anlamda fark vardır ( $P<0,05$ ).



**Şekil 3.** Yaz döneminde GSH değişimleri.

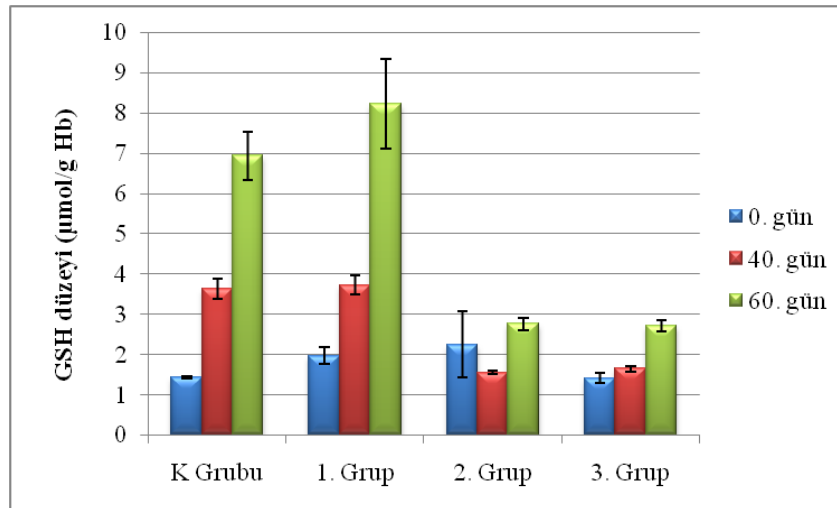
Kış döneminde tüm çalışma grupları kontrol grubu ile kıyaslandığında GSH düzeylerinin artış eğiliminde olduğu gözlemlendi. K ve 1. grupta ilk 40 günlük yükseliş önemli bulunurken, artışın 40. günden sonra da sürdüğü ve en yüksek düzeylerinin 60. günde olduğu gözlemlenmiştir. Bu dönemdeki artış kontrol dahil tüm gruplarda önemli ( $P<0,001$ ) bulunmuştur. Çalışma gruplarından 2. ve 3. grupta ise 0. ve 40. gün elde edilen GSH düzeyleri arasında istatistiksel açıdan fark olmadığı ( $P>0,05$ ), 60. gün GSH düzeyi ile diğer günlerde elde edilen bulgular arası farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu ( $P<0,05$ ) tespit edilmiştir. Kış döneminde grupların ortalama GSH düzeyleri Tablo 7’de, GSH değişimleri ise Şekil 4’te belirtilmiştir.

**Tablo 7.** Kış döneminde GSH düzeyleri ( $\mu\text{mol/g Hb}$ ) ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ ).

Gruplar	n	KIŞ			Önemlilik
		0. gün	40. gün	60. gün	
K Grubu	15	1,42 $\pm$ 0,03 <sup>c</sup>	3,62 $\pm$ 0,25 <sup>b</sup>	6,93 $\pm$ 0,60 <sup>a</sup>	***
1. Grup	15	1,96 $\pm$ 0,21 <sup>c</sup>	3,72 $\pm$ 0,23 <sup>b</sup>	8,22 $\pm$ 1,10 <sup>a</sup>	***
2. Grup	15	2,24 $\pm$ 0,82 <sup>b</sup>	1,55 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>	2,76 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>	***
3. Grup	15	1,41 $\pm$ 0,13 <sup>b</sup>	1,64 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	2,70 $\pm$ 0,14 <sup>a</sup>	***

\*\*\*:  $P<0,001$

a, b,c: Aynı satırda farklı harf taşıyan grup ortalamaları arasında istatistiksel anlamda fark vardır ( $P<0,05$ ).



**Şekil 4.** Kış döneminde GSH değişimleri.

### 4.3. GSH-Px Düzeyleri

Yapılan çalışmada lipit peroksidasyonunu engellemede görevli olan GSH-Px enziminin düzeyi de belirlenmiştir. Ancak kış dönemine ait 60. gün kan örnekleri teknik aksaklıklardan dolayı değerlendirilmeye alınmamıştır.

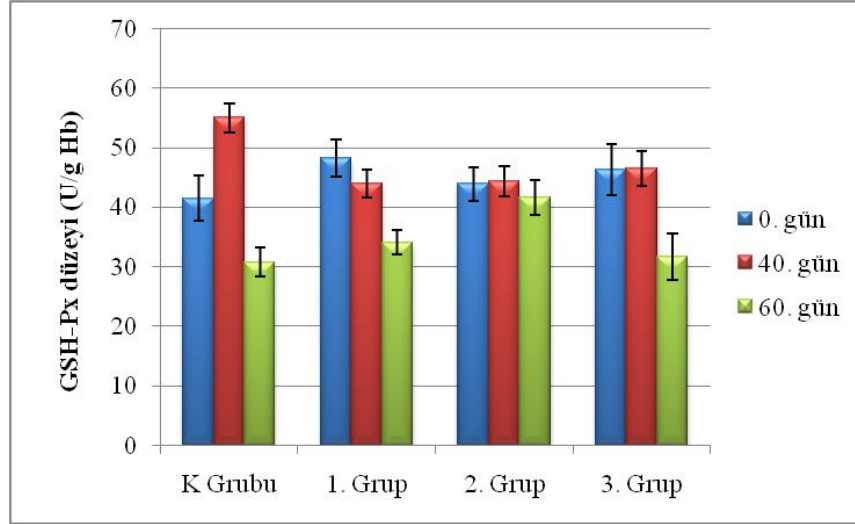
Yaz döneminde tüm çalışma gruplarında en düşük GSH-Px düzeyleri 60. günde tespit edilmiştir. K grubunda 0. ve 60. gün elde edilen GSH-Px arasında istatistiksel açıdan fark olmadığı ( $P>0,05$ ), 40. gün GSH-Px düzeyi ile diğer günlerde elde edilen bulgular arası farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu ( $P<0,05$ ) gözlemlenmiştir, 1. grupta ise 0. ve 40. gün belirlenen düzeyler arasında anlamlı bir fark olmadığı, ancak 60. gün elde edilen değer ile diğer günler arasındaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu ( $P<0,05$ ) görülmüştür. Yapılan analizler sonucu 2. ve 3. grupta GSH-Px düzeyleri arasında istatistiksel anlamda herhangi bir fark bulunmamıştır. Kış döneminde grupların ortalama GSH-Px düzeyleri Tablo 8’de, GSH-Px değişimleri ise Şekil 5’te belirtilmiştir.

**Tablo 8.** Yaz döneminde GSH-Px düzeyleri (U/g Hb) ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ ).

Gruplar	n	YAZ			Önemlilik
		0. gün	40. gün	60. gün	
K Grubu	15	41,50 $\pm$ 3,87 <sup>b</sup>	55,02 $\pm$ 2,46 <sup>a</sup>	30,73 $\pm$ 2,41 <sup>b</sup>	***
1. Grup	15	48,22 $\pm$ 3,04 <sup>a</sup>	43,92 $\pm$ 2,29 <sup>a</sup>	34,04 $\pm$ 2,02 <sup>b</sup>	**
2. Grup	15	43,92 $\pm$ 2,80	44,30 $\pm$ 2,50	41,65 $\pm$ 2,92	ÖD
3. Grup	15	46,32 $\pm$ 4,30	46,53 $\pm$ 2,88	31,66 $\pm$ 3,92	ÖD

\*\*\*:  $P<0,001$ , \*\*:  $P<0,01$ , ÖD: Önemli değil

a, b: Aynı satırda farklı harf taşıyan grup ortalamaları arasında istatistiksel anlamda fark vardır ( $P<0,05$ ).



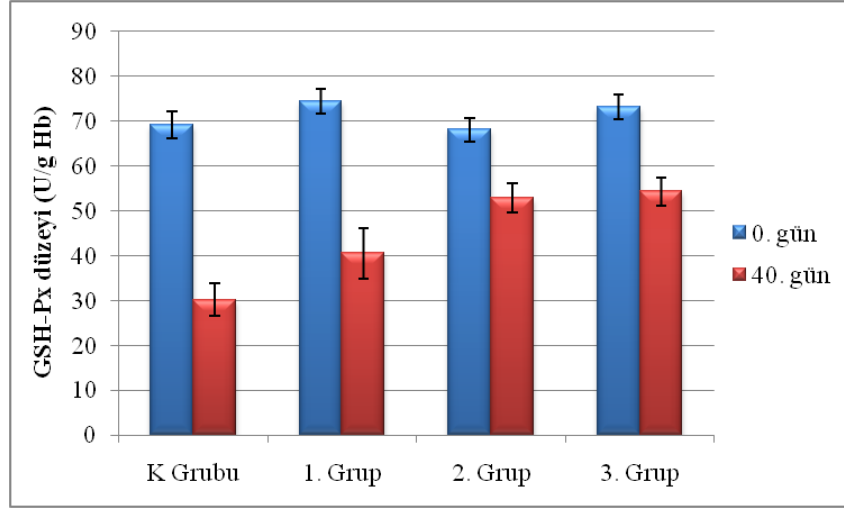
**Şekil 5.** Yaz döneminde GSH-Px değişimleri.

Kış döneminde tüm gruplarda ilk 40 günde azalma istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ( $P < 0,05$ ). Tüm deneme gruplarında azalma görülmesi ile birlikte 40. günün sonunda en yüksek GSH-Px düzeyi 3. grupta gözlemlenmiştir. Kış döneminde grupların ortalama GSH-Px düzeyleri Tablo 9’da, GSH-Px değişimleri ise Şekil 6’da gösterilmiştir.

**Tablo 9.** Kış döneminde GSH-Px düzeyleri (U/g Hb) ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ ).

Gruplar	n	KIŞ		Önemlilik
		0. gün	40. gün	
K Grubu	15	69,26 $\pm$ 3,02	30,13 $\pm$ 3,64	**
1. Grup	15	74,34 $\pm$ 2,74	40,54 $\pm$ 5,60	**
2. Grup	15	68,16 $\pm$ 2,65	52,81 $\pm$ 3,25	*
3. Grup	15	73,19 $\pm$ 2,68	54,37 $\pm$ 3,16	**

\*\* :  $P < 0,01$  \* :  $P < 0,05$



**Şekil 6.** Kış döneminde GSH-Px değişimleri.

#### 4.4. MDA, GSH ve GSH-Px Düzeylerindeki Mevsimsel Farklılıkların Karşılaştırılması

Yaz ve kış dönemlerinde 0. gün rasyonlarda herhangi bir değişiklik yapılmadığından MDA ve GSH düzeylerindeki değişikliklerin belirlenmesinde 40. ve 60. gün elde edilen veriler kullanılmıştır. GSH-Px düzeyindeki değişikliklerde ise kış dönemi 60. gün verileri bulunmadığından her iki çalışma döneminde 40. gün verileri değerlendirmeye alınmıştır.

Yapılan analizler sonucu yaz döneminde 2. ve 3. gruba ait MDA düzeylerindeki artışın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu ( $P < 0,05$ ) tespit edilmiştir. Dönemlerin gruplar üzerine olan etkisi değerlendirildiğinde K grubu, 2. ve 3. gruplarda yaz ve kış dönemlerinde tespit edilen MDA düzeyleri arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ( $P < 0,05$ ), 1. grupta ise 2 ayrı çalışma döneminde belirlenen düzeyler arasındaki farkın istatistiksel anlamda önemli olmadığı görülmüştür. Kış döneminde ise çalışma gruplarında belirlenen MDA düzeyleri arasındaki fark istatistiksel anlamda önemli bulunmamıştır. Tablo 10'dayaz ve kış dönemlerinde çalışma gruplarına ait ortalama MDA düzeyleri belirtilmiştir.

**Tablo 10.** Yaz ve kış dönemlerinde ortalama MDA düzeyleri ( $\mu\text{mol/l}$ ) ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ ).

<b>Mevsim</b>					
<b>Grup</b>	<b>n</b>	<b>Yaz</b>	<b>n</b>	<b>Kış</b>	<b>Önemlilik</b>
K Grubu	15	$0,16 \pm 0,003^b$	15	$0,14 \pm 0,006$	**
1. Grup	15	$0,19 \pm 0,03^b$	15	$0,18 \pm 0,03$	ÖD
2. Grup	15	$0,20 \pm 0,007^a$	15	$0,15 \pm 0,004$	***
3. Grup	15	$0,22 \pm 0,007^a$	15	$0,14 \pm 0,007$	***
<b>Önemlilik</b>		***		ÖD	

\*\*\*:  $P < 0,001$  \*\*:  $P < 0,01$ , ÖD: Önemli değil

a, b: Aynı sütunda farklı harf taşıyan grup ortalamaları arasında istatistiksel anlamda fark vardır ( $P < 0,05$ ).

Bulgular GSH açısından değerlendirildiğinde; yaz döneminde K grubu, 2. ve 3. gruplara ait GSH düzeyleri arasında istatistiksel açıdan fark olmadığı ( $P > 0,05$ ), ancak 1. grup GSH düzeyi ile aralarındaki farkın istatistiksel bakımdan anlamlı olduğu ( $P < 0,05$ ) tespit edilmiştir. Kış döneminde ise 2. ve 3. grubun GSH düzeylerinin K grubu ve 1. gruba göre anlamlı derecede düştüğü ( $P < 0,001$ ) görülmüştür. Çalışma dönemlerinin gruplar üzerindeki etkisi incelendiğinde, K grubu dışındaki diğer gruplarda yaz ve kış dönemlerinde belirlenen GSH düzeyleri arasındaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu ( $P < 0,05$ ) gözlemlenmiştir. Tablo 11’de yaz ve kış dönemlerinde çalışma gruplarına ait ortalama GSH düzeyleri gösterilmiştir.

**Tablo 11.** Yaz ve kış dönemlerinde ortalama GSH düzeyleri ( $\mu\text{mol/g Hb}$ ) ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ ).

<b>Mevsim</b>					
<b>Grup</b>	<b>n</b>	<b>Yaz</b>	<b>n</b>	<b>Kış</b>	<b>Önemlilik</b>
K Grubu	15	$4,91 \pm 0,61^b$	15	$5,27 \pm 0,36^a$	ÖD
1. Grup	15	$7,64 \pm 0,46^a$	15	$6,10 \pm 0,52^a$	*
2. Grup	15	$5,10 \pm 0,35^b$	15	$2,15 \pm 0,08^b$	***
3. Grup	15	$5,35 \pm 0,36^b$	15	$2,17 \pm 0,07^b$	***
<b>Önemlilik</b>		***		***	

\*\*\*:  $P < 0,001$

a, b: Aynı sütunda farklı harf taşıyan grup ortalamaları arasında istatistiksel anlamda fark vardır ( $P < 0,05$ ).

Yaz döneminde K grubu ile diğer çalışma gruplarında belirlenen GSH-Px düzeyleri arasındaki fark istatistiksel anlamda önemli bulunmuştur ( $P < 0,05$ ). Kış döneminde ise çalışma gruplarında belirlenen GSH-Px düzeyleri incelendiğinde; GSH düzeyinde olduğu gibi K

grubu ve 1. gruba ait GSH-Px düzeyleri ile 2. ve 3. gruba ait GSH-Px düzeyleri arasında istatistiksel açıdan fark olmadığı ( $P>0,05$ ), ancak kontrol grubu ve 1. grubun GSH-Px düzeyleri ile 2. ve 3. grubun GSH-Px düzeyleri arası farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu ( $P<0,001$ ) belirlenmiştir. Çalışma dönemlerinin gruplar üzerine olan etkisi incelendiğinde; 1. grup hariç diğer gruplarda yaz ve kış dönemlerinde tespit edilen GSH-Px düzeyleri arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ( $P<0,05$ ) görülmüştür. Yaz ve kış dönemlerinde çalışma gruplarına ait ortalama GSH-Px düzeyleri Tablo 12’de belirtilmiştir.

**Tablo 12.** Yaz ve kış dönemlerinde 40. gün ortalama GSH-Px düzeyleri (U/g Hb) ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ ).

<b>Mevsim</b>	<b>n</b>	<b>Yaz</b>	<b>n</b>	<b>Kış</b>	<b>Önemlilik</b>
<b>Grup</b>					
K Grubu	15	55,02 $\pm$ 2,46 <sup>a</sup>	15	30,13 $\pm$ 3,64 <sup>b</sup>	***
1. Grup	15	43,92 $\pm$ 2,29 <sup>b</sup>	15	40,54 $\pm$ 5,60 <sup>b</sup>	ÖD
2. Grup	15	44,30 $\pm$ 2,50 <sup>b</sup>	15	52,81 $\pm$ 3,25 <sup>a</sup>	*
3. Grup	15	46,53 $\pm$ 2,88 <sup>b</sup>	15	54,37 $\pm$ 3,16 <sup>a</sup>	*
<b>Önemlilik</b>		*		***	

\*\*\*:  $P<0,001$ , ÖD: Önemli değil, \*:  $P<0,05$

<sup>a, b</sup>: Aynı sütunda farklı harf taşıyan grup ortalamaları arasında istatistiksel anlamda fark vardır ( $P<0,05$ )

#### 4.5. Gebelik Oranları

Araştırma kapsamında yapılan istatistiksel analizlerde kış ve yaz dönemlerinde farklı çalışma gruplarında gebelik oranları arasında istatistiksel bir fark belirlenmemiştir ( $P>0,05$ ). Aynı şekilde kış ve yaz dönemlerinin çalışma gruplarında gebelik oranlarına olan etkisi incelendiği sayısal fark bulunmasına rağmen istatistiksel açıdan bu farkın önemli olmadığı tespit edilmiştir ( $P>0,05$ ). Kış ve yaz dönemlerinde çalışma gruplarına ait gebelik oranları Tablo 13’te belirtilmiştir.

**Tablo 13.** Yaz ve kış dönemlerinde çalışma gruplarına ait gebelik oranları (%).

<b>Grup</b>	<b>K Grubu</b>	<b>1. Grup</b>	<b>2. Grup</b>	<b>3. Grup</b>	<b>Genel</b>	<b>Önemlilik</b>
<b>Mevsim</b>	<b>(n=15)</b>	<b>(n=15)</b>	<b>(n=15)</b>	<b>(n=15)</b>	<b>Ortalama</b>	
Yaz	53,3	40	53,3	60	51,7	ÖD
Kış	53,3	53,3	66,7	73,3	61,7	ÖD
<b>Önemlilik</b>	ÖD	ÖD	ÖD	ÖD	ÖD	

ÖD: Önemli değil

## 5. TARTIŞMA

Süt sığırcılığı işletmelerinin ekonomik istikrarının sağlanmasında en önemli kriterindöl verimi olduğu, bunun ölçüsünün ise yılda bir yavru edilmesi olduğu kabul edilmektedir. Döl verimini etkileyen en önemli faktör olan genetik kapasitenin yanı sıra bakım, yönetimle özellikle besleme ve iklim gibi çevresel faktörler de rol oynamaktadır. Aydın ili ve çevresindeki işletmelerde çoğunlukla yüksek süt verimi ve yetersiz beslenmeye bağlı olarak gebelik oranının düştüğü, özellikle yaz dönemlerinde sıcak stresine bağlı olarak bu durumundaha da şiddetlendiği görülmektedir. Bu sorunu en aza indirmek veya tamamen elimine etmek için farklı stratejilerin uygulanması zorunlu görülmektedir. Bu amaçla rasyonların bazı ticari yem katkı maddeleriyle desteklenmesi sık başvurulan bir yöntem olmaktadır.

Se antioksidan savunma sistemindeki görevleri ve reproduktif sistemde fertilitte, embriyonik implantasyon, bazı post partum hastalıklar üzerindeki etkinliği nedeniyle iz mineraller arasında önemli bir yere sahiptir. Uzun süre Se'nin inorganik formu rasyonlara ilave edilmiş, ancak yapılan araştırmalarda rasyonlara eklenen Se'nin organik formunun metabolizmada daha etkin olduğu ortaya konmuştur.

Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan MDA, serbest radikaller tarafından oluşturulan oksidatif hasarın belirlenmesinde indeks olarak kullanılmaktadır. Yapılan araştırmada yaz döneminde MDA değerleri incelendiğinde K grubu hariç diğer gruplarda en yüksek MDA düzeylerinin 40. günde olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte yaz döneminde yapılan analizlerde çalışma gruplarında farklı günlerde ölçülen MDA değerleri arasında istatistiksel anlamda herhangi bir fark bulunamamıştır. Yaz dönemi K grubu hariç diğer gruplarda 0. günden itibaren MDA düzeylerinde artış olduğu, 60. günde ise MDA düzeylerinin azalma eğiliminde olduğu saptanmıştır. Kış deneme döneminde 2. grup MDA düzeylerinde herhangi bir değişim gözlenmemiştir. Deneme dönemlerinin çalışma gruplarına etkisi incelendiğinde kış döneminde çalışma gruplarında belirlenen MDA düzeyleri arasındaki fark istatistiksel anlamda önemli bulunmamış, yaz döneminde ise K grubu ve 1. grubun MDA düzeyleri ile 2. ve 3. grubun MDA düzeyleri arası farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu ( $P<0,05$ ) tespit edilmiştir. Dönemlerin gruplar üzerine olan etkisi incelendiğinde de K grubu, 2. ve 3. gruplarda yaz ve kış dönemlerinde tespit edilen MDA düzeyleri arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ( $P<0,05$ ), 1. grupta ise 2 ayrı çalışma döneminde belirlenen düzeyler



arasındaki farkın istatistiksel anlamda önemli olmadığı belirlenmiştir. Bununla birlikte bütün çalışma gruplarında sayısal anlamda yaz dönemine ait MDA düzeylerinin kış dönemine ait MDA düzeylerine göre artış gösterdiği tespit edilmiştir.

İspanya’da sağlıklı ineklerdeki oksidatif durumun belirlenmesi amacıyla yapılan bir araştırmada, doğum sonrası 7. ayında olan 29 inekten ve doğumdan 1-8 hafta geçmiş 10 inekten oluşan iki grup oluşturulmuş, her iki grubun rasyonuna da içerisinde 4 g Se bulunan yem katkı maddesi ilave edilmiş, uygulamanın 1, 2, 4, 6, ve 8. haftalarında kan örnekleri alınarak MDA düzeyi incelenmiştir. Yapılan analizler sonucu iki çalışma grubuna ait MDA düzeylerinin arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı görülmüştür. Doğumdan 1- 8 hafta geçen ineklerin MDA düzeyleri arasında da fark bulunmadığı, bununla birlikte diğer gruptaki ineklerin MDA düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmamasına rağmen 4. haftadan itibaren MDA düzeyinde azalmanın şekillendiği tespit edilmiştir (Castillo ve ark, 2006).

Khatti ve ark (2017) 13’er gebe inekten oluşan 2 çalışma grubundan, kontrol grubunun rasyonuna Se takviyesi yapmazken deney grubuna ise kuru maddesinde 0,3 mg/kg olacak şekilde Se ilavesi yapmış, uygulamaya doğumdan 4 hafta önce ve 8 hafta sonrasına kadar devam etmiştir. Araştırmada her iki grupta da doğuma kadar geçen süreçte MDA düzeyinin artış gösterdiği, doğumdan sonra ise 2. ve 4. haftada en yüksek seviyeye ulaştığı, ancak daha sonrasında düşme eğilimi gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca deney grubuna ait MDA düzeyinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğu bildirilmiştir.

Calamari ve ark (2011) laktasyon dönemindeki ineklerin hematolojik profilleri ile oksidatif stres ve çevre sıcaklığı arasındaki ilişkinin belirlenmesi amacıyla yaptıkları bir araştırmada kontrol ve 4 farklı çalışma grubundan oluşan toplam 40 ineğin rasyonuna organik ve inorganik Se yem katkılarını 0,31 mg/kg ve 0,50 mg/kg olacak şekilde ikişer dozda ilave ederek uygulamayı 140 gün boyunca sürdürmüştür. Çalışmanın başlangıcında (23 Mart) ve 28, 56, 84, 112, 126, ve 140. günlerde kan örnekleri alınmış ve MDA düzeyleri belirlenmiştir. Yapılan analizler sonucunda sıcak dönemde belirlenen organik Se ilavesi yapılan grupların MDA düzeylerinin kontrol ve inorganik Se katkısı yapılan gruplardan daha düşük olduğu ve istatistiksel anlamda aralarındaki farkın önemli olduğu belirlenmiştir.

Sun ve ark (2019) tarafından yapılan araştırmada her bir grupta laktasyon periyodunun ortasında olan 4’er inek olmak üzere 2 grup oluşturulmuş ve 1. grubun rasyonuna günde 3,9 mg organik Se, 2. grubun rasyonuna ise günde 3,7 mg inorganik Se ilave edilerek 9 gün boyunca sıcak stresine maruz bırakılmıştır. Her iki çalışma grubuna ait MDA düzeyleri değerlendirildiğinde organik Se takviyesi yapılan grubun MDA düzeyinin inorganik Se

takviyesi yapılan gruba ait MDA düzeyine göre daha düşük olduğu ve aralarındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı bulunduğu bildirilmiştir.

Burada rapor edilen tez çalışmasında da yaz döneminde yapılan denemede elde edilen MDA değerlerinin kış dönemindeki değerlere nazaran daha yüksek olduğu, bu durumunda artan çevre sıcaklığına bağlı oluşan stres sonucu şekillendiği düşünülmektedir. Ayrıca yaz döneminde K grubu ile 1. grup arasında istatistik açıdan farklılığın belirlenememesi her iki gruptaki ineklerin strese bağlı artış göstermesi beklenen lipid peroksidasyonuna karşı benzer tepkiyi vermesine bağlanmıştır. Bununla birlikte yaz döneminde K grubu hariç diğer gruplarda 60. günde MDA değerlerinin diğer günlere göre daha düşük değerlere sahip olmasının kullanılan Se takviyesinin MDA düzeyi üzerine etkili olduğunu ortaya koymuştur. Yaz döneminde diğer gruplara ait MDA seviyelerinin daha yüksek oluşu ise hayvana ait bireysel faktörlerin ve stres intoleranslarının farklılığından kaynaklandığı kanısına varılmıştır.

Organizma çeşitli stres faktörleri ile karşılaştığında artış gösteren serbest radikallerin üretimine antioksidan sistem ile indirgeyici etki göstermeye çalışmaktadır. Sıcaklık stresi sonucu şekillenen oksidatif stres organizmanın birçok hücresinde geri dönüşümsüz hasarlara neden olabilmektedir. Enzimatik olmayan antioksidanlardan hidrofilik özellikteki GSH; intraselüler indirgenme reaksiyonlarında, aminoasitlerin taşınmasında ve bazı antioksidan enzimlerin yapısında bulunmaktadır. Aynı zamanda eritrositlerin hücre yapısının korunmasında ve hemoglobindeki demirin ferro durumunda tutulması için de gerekli olup,  $H_2O_2$  ve organik peroksitlerden kaynaklanan oksidasyon reaksiyonlarında meydana gelebilecek hasarlara karşı korumaktadır (Murray ve ark, 1996; Valko ve ark, 2007). Strese bağlı artış gösteren serbest radikaller ile doğru orantılı olarak organizmada antioksidan kullanımı da artmakta, dolayısıyla GSH düzeyinde de azalmalar şekillenebilmektedir (Deveci ve Güven, 2008; Sharma ve ark, 2011). Bu çalışmada yaz döneminde yapılan denemede K grubu ve 1. grupta GSH düzeylerinin 40. günde azalma, 60. günde artış gösterdiği belirlenmiştir. Çalışma gruplarından 2. ve 3. grupta 0. ve 40. gün tespit edilen GSH düzeyleri arasında istatistiksel açıdan fark olmadığı, ancak 60. gün GSH düzeyi ile diğer günlerde elde edilen bulgular arası farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu gözlemlenmiştir. Kış döneminde ise farklı günlerde belirlenen GSH düzeyleri değerlendirildiğinde rasyona Se takviyesinin yapılmaya başlanmasından itibaren çalışma gruplarının tümünde GSH düzeylerinin artma eğiliminde olduğu ve en yüksek düzeylere ise 60. günde ulaşıldığı gözlemlenmiştir. Ancak 2. grupta 40. günde GSH düzeyinde istatistiksel olarak önemli olmayan fakat sayısal olarak bir azalma şekillenmiş, 60. günde tekrar artış şekillenmiştir. Deneme dönemlerinin çalışma gruplarına etkisi değerlendirildiğinde hem yaz hem kış

döneminde en yüksek GSH düzeyinin 1. gruba ait olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte K grubu dışındaki diğer gruplarda yaz ve kış dönemlerinde belirlenen GSH düzeyleri arasındaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu gözlemlenmiştir.

Sharma ve ark (2011) ileri gebelik (son 4 hafta) ve postpartum dönemde (ilk 4 hafta) süt ineklerinde oksidatif stres ve buna bağlı şekillenen antioksidan durumunu inceledikleri çalışmada ileri gebelik döneminde tespit edilen GSH düzeyi ile post partum dönemdeki GSH düzeyi arasındaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğunu, post partum dönemde GSH düzeyinin daha düşük olduğunu belirtmişlerdir. Bu durumda özellikle doğum sırasında şekillenen oksidatif stres kaynaklı olabileceği bildirilmiştir.

Hall ve ark (2014) rasyona ilave edilen organik Se katkısının GSH düzeyine olan etkisini belirlemek amacıyla yaptıkları bir araştırmada gebeliğin son 8 haftasında olan 20 inekten kontrol ve rasyonuna haftada bir kez 105 mg organik Se ilave edilen deneme grubu oluşturmuşlardır. Gruplardaki hayvanlardan doğumdan hemen sonra, 48 saat sonra ve 14 gün sonra olmak üzere kan örnekleri alınmış, doğumdan hemen sonra ve 48 saat sonrasında deneme grubunda tespit edilen GSH düzeyinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğu ancak 14. gün yapılan analizlerde ise deneme grubuna ait GSH düzeyinin kontrol grubundan daha yüksek düzeyde olduğu belirlenmiş, organik Se katkısının postpartum dönemde ineklerde hücrel redoks durumunda etkili olabileceği bildirilmiştir.

Gong ve Xiao (2018) tarafından yapılan araştırmada organik Se takviyesinin geçiş dönemindeki süt ineklerinde oksidatif stres ve antioksidan düzeyine olan etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Deneme grubunun rasyonuna 0,3 mg/kg organik Se ilavesi yapılmış, beklenen doğum tarihinden 21 ve 7 gün önce, doğumdan sonra da 7 ve 21. günlerde GSH düzeyleri incelenmiştir. Analizler sonucunda organik Se takviyesi yapılan grupta GSH düzeyinin değişmediği, kontrol grubunda ise doğum sonrası 7. günde belirgin bir azalma şekillendiği bildirilmiştir. Çalışma grupları karşılaştırıldığında deneme grubunun kontrol grubuna göre doğum sonrası 7. ve 21 günlerde daha yüksek GSH düzeyine sahip olduğu bildirilmiştir.

Bu çalışmada yaz döneminde K grubu hariç diğer gruplarda belirlenen GSH düzeyinin kış döneminde tespit edilen düzeyden daha yüksek olması, yaz döneminde organik Se takviyesinin oksidatif strese karşı etkili olduğunu düşündürmektedir. Ancak yaz döneminde 40. ve 60. gün belirlenen GSH düzeyleri arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı bulunması ve 60. günde daha da düşük düzeyde bulunması hayvanın bireysel faktörlerinin antioksidan savunma sisteminde etkili olabileceğinin yanı sıra rasyona ilave edilen Se konsantrasyonunun da bu durum ile ilgili olabileceği kanaatini oluşturmuştur.

Se, antioksidan enzimlerden olan GSH-Px'in yapısında bulunmasından dolayı lipid peroksitlerinin yıkılmasında rol almaktadır. GSH-Px H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> varlığında GSH'nin oksidasyonunu katalize etmekte (GSSG), aynı zamanda da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i su ve oksijene ayrıştırarak detoksifiye edebilmektedir (Mates ve ark, 1999). Çalışmada yaz döneminde yapılan denemelerde 2. ve 3. grupta farklı günlerde belirlenen düzeyler arasındaki farkın istatistiki açıdan önemli bulunmaması ile birlikte çalışma gruplarının tamamında en düşük GSH-Px düzeyleri 60. günde gözlemlenmiştir. Kış döneminde yapılan denemede ise bütün çalışma gruplarında 40. gün belirlenen GSH-Px düzeylerinin 0. gün değerleri ile karşılaştırıldığında azalma eğiliminde olduğu, aynı zamanda söz konusu değerler arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Deneme dönemlerinin GSH-Px düzeyine olan etkisi değerlendirildiğinde 1. grup hariç diğer tüm gruplar arasındaki fark önemli bulunmuştur. Bununla birlikte her iki deneme döneminde de çalışma grupları arasındaki farkın istatistiki olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir.

Bernabucci ve ark (2002) tarafından sıcak stresinin süt ineklerinin oksidatif durumuna etkisinin belirlenmesi üzerine yapılan bir çalışmada, yaz döneminde elde edilen GSH-Px düzeyinin bahar döneminden daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Japonya'da ineklerde yaz ve kış mevsimlerinde GSH-Px düzeyi araştırılmış, kış mevsiminde GSH-Px düzeyinin yaz mevsimine göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Sakatani ve ark, 2012).

Arkansas'ta yapılan bir araştırmada rasyona ilave edilen organik ve inorganik kaynaklı Se'nin GSH-Px üzerine etkisi incelenmiş, organik Se ilavesi yapılan deneme grubuna ait GSH-Px düzeyinin hem kontrol grubundan hem de diğer deneme grubundan daha yüksek düzeyde olduğu bildirilmiştir (Gunter ve ark, 2013).

Rutigliano ve ark (2008) tarafından yapılan bir araştırmada doğumdan 25 gün önce ve post partum 80. güne kadar organik ve inorganik Se yem katkılarından 0,3 mg/kg olacak şekilde rasyona eklenmiş, GSH-Px düzeyleri -45, 0, 21, 42 ve 63. günlerde incelenmiştir. Yapılan analizler sonucunda GSH-Px düzeyi açısından rasyona ilave edilen her iki Se katkısı ile çalışmadaki günler arasında etkileşim gözlenmediği, sayısal olarak organik Se yem katkısı kullanılan grubun GSH-Px düzeyinin daha yüksek olduğu ancak iki grup arasında istatistiksel olarak fark bulunmadığı tespit edilmiştir.

İtalya'da yapılan bir araştırmada ise laktasyon dönemindeki süt ineklerinde rasyona ilave edilen çeşitli miktarlardaki organik ve inorganik Se katkısının oksidatif stres parametreleri üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla kontrol grubu hariç, 1. gruba ve 2. gruba organik Se içeren yem katkısından sırasıyla 0,31 mg/kg, ve 0,50 mg/kg; 3.

ve 4. gruba inorganik Se içeren yem katkısından sırasıyla 0,31 mg/kg, ve 0,50 mg/kg 140 gün boyunca verilmiş, çalışmanın başlangıcından itibaren birer hafta arayla 15 hafta kan örnekleri alınmış ve GSH-Px düzeyleri tespit edilmiştir. Analizler sonucunda deneme gruplarının tamamında belirlenen GSH-Px düzeyi kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu ve deneme grupları ile kontrol grubu arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir. Ancak deneme gruplarının arasında istatistiksel açıdan fark bulunmamasına rağmen 1. ve 2. gruba ait GSH-Px düzeyinin 3. ve 4. gruba ait düzeyden sayısal olarak daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca çalışmanın başlangıcından 3. haftaya kadar tüm deneme gruplarında GSH-Px düzeyinin düşme eğiliminde olduğu, kontrol grubunda ise bu azalmanın 6. haftaya kadar devam ettiği bildirilmiştir. Aynı çalışmada deneme gruplarında 6. haftadan sonra GSH-Px düzeyinin yükseldiği gözlemlenmiştir (Calamari ve ark, 2010).

Yaz döneminde K grubu ve 1. grupta 40. ve 60. günde belirlenen düzeyler arasında istatistiksel olarak fark önemli bulunmuş, 2. ve 3. grupta ise fark önemli bulunmamıştır. Ancak hem 2. hem de 3. grupta sayısal olarak azalma gözlemlenmiştir. Bu durumun şekillenen oksidatif strese karşı yapılan antioksidatif aktivitenin artmasına bağlı olabileceği kanısına varılmıştır. Gruplar arası fark değerlendirildiğinde yaz döneminde 2. grubun en yüksek GSH-Px düzeyine sahip olduğu, Se takviyesinin antioksidan savunma sistemi üzerine etkisinin yanı sıra bireysel faktörlerin de önemli olduğu düşünülmektedir.

Çalışma kapsamında rasyona ilave edilen organik Se takviyesinin kan parametreleri üzerine olan etkisi genel olarak değerlendirildiğinde yaz döneminde yapılan denemede MDA düzeylerinin sıcak stresi kaynaklı artan lipid peroksidasyonu sonucu artış gösterdiği, Se takviyesi yapılan 3. grupta 60 gün sonunda istatistiksel olarak 0. gün ile fark olmasa da sayısal anlamda MDA düzeyinin azaldığı gözlemlenmiştir. Diğer deneme gruplarında da MDA düzeyinde 60. günde azalmalar şekillendiği belirlenmiştir. Yeterli immun yanıt oluşturmak adına belli bir miktar serbest radikal gerekmekte ancak lipid peroksidasyonuna neden olan aşırı serbest radikal üretimi DNA hasarına, protein sentezinin inhibisyonuna neden olduğundan oksidatif strese yol açmaktadır (Dargel, 1992; Riley, 1994; Sun ve ark, 2019). Bu çalışmada organik Se takviyesinin, muhtemelen sıcak stresi kaynaklı oluşan serbest radikallerin azalması nedeniyle oksidan ve antioksidan sistemler üzerine olumlu etkisi olduğu görülmüştür. GSH düzeyi incelendiğinde yaz döneminde K grubuna nazaran deneme gruplarının GSH düzeyinin daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. GSH Se bağımlı GSH-Px'lerin kofaktörü olarak görev yapmakta ve oksidatif stres halinde GSSG'ye oksitlenmektedir (Hall ve ark, 2014). Elde edilen bulgular organik Se ilavesinin enzimatik olmayan GSH üzerine olumlu yönde etki ettiğini ortaya konmuştur. GSH-Px düzeyi ile ilgili olarak yaz döneminde

sıcak stresi sonucu aktivitesinin arttığı, dolayısıyla da düzeyde zamana bağlı olarak azalma şekillendiği tespit edilmiştir. Sıcak stresi serbest radikaller ile antioksidanlar arasında dengesizliğe neden olmaktadır (Megahed ve ark, 2008). Artan serbest radikal üretimi antioksidanların endojen sentezini azaltan plazma antioksidan aktivitesinde bir azalmaya neden olabilmektedir. Ayrıca yaz döneminde şekillenen sıcak stresi, ineklerin fizyolojisini önemli ölçüde etkilediğinden yem alımı ve yemden yararlanma oranı düşmekte, vücut sıcaklıkları ise artış göstermektedir. Artan serbest enerji talebi ve bu talep sonucu şekillenen lipoliz, serbest radikal üretiminin artmasına ve antioksidan aktivitenin azalmasına neden olabilmektedir (Kurokawa ve ark, 2016; Çolakoğlu ve ark, 2017; Kumar ve ark, 2017). Mevcut çalışmada elde edilen veriler, GSH-Px düzeyinin sıcak stresinden etkilendiğini, yaz döneminde çalışma gruplarının kışa nazaran daha fazla oksidatif strese sahip olduğunu ve bununla birlikte rasyona ilave edilen Se katkısının oksidatif strese karşı etkili olduğunu göstermiştir.

Çalışma kapsamında kış ve yaz dönemlerinde çalışma gruplarına ait gebelik oranları arasında istatistiki bir fark bulunmamasına rağmen hem kış hem de yaz döneminde 3. deneme gruplarının gebelik oranlarının K grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Deneme dönemlerinin gruplar üzerine olan etkisi değerlendirildiğinde ise istatistiksel olarak fark önemli olmamakla birlikte kış döneminde belirlenen gebelik oranlarının yaz dönemine göre daha fazla olduğu gözlemlenmiştir.

Alnimer ve ark (2002) tarafından İtalya’da yapılan bir araştırmada kış ve yaz mevsimlerinde elde edilen gebelik oranları değerlendirildiğinde, kış mevsiminde gebelik oranının %81,0, yaz mevsiminde ise %56,3 olduğu, belirlenen gebelik oranları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bildirilmiştir.

Silvestre ve ark (2007) tarafından yapılan bir araştırmada sıcak stresi altında bulunan süt ineklerinden oluşan iki çalışma grubunun rasyonuna organik ve inorganik Se ilavesi yapılmış ve Se’nin gebelik oranları üzerine etkisi araştırılmıştır. Yapılan deneme sonucunda organik Se takviyesi yapılan grubun gebelik oranının daha yüksek olduğu ve gruplar arası farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bildirilmiştir.

Rasyona organik ve inorganik Se içeren yem katkısının gebelik oranlarına etkisinin araştırıldığı başka bir çalışmada deneme gruplarına ait gebelik oranları arasındaki farkın istatistiki açıdan önemli olmadığı bildirilmiştir (Rutigliano ve ark, 2006).

Yaz döneminde şekillenen sıcak stresi tohumlama yapılan süt ineklerinde, reproduktif performansın düşmesine neden olmaktadır. Yüksek çevre sıcaklığında östrus belirtilerinde, iştah ve kuru madde alımında da azalmalar görülebilmektedir. Stres altında bulunan ineklerde

östrus belirtileri belirgin olmadığından östrusun tespiti zorlaşmakta, aynı zamanda servis periyodu, buzağılama aralığı ve buzağılama ile ilk tohumlama arası sürelerde uzamalar şekillenmektedir. Sıcak stresi nedeniyle teka ve granuloza hücrelerinde steroidojenik kapasite ile kan östradiol konsantrasyonlarında düşme şekillendiğinden dominant folikülün etkinliği azalmaktadır. Plazma progesteron seviyesi ise sıcak stresinin akut ya da kronik olmasına bağlı değişkenlik gösterebilmektedir. Söz konusu endokrin değişimler foliküler aktiviteyi azaltmakta ve ovulasyon mekanizmasını değiştirdiğinden oosit ve embriyo kalitesinin düşmesine neden olmaktadır. Uterin ortamda da modifikasyon şekillendiğinden dolayı konsepsiyon oranı düşmekte ve embriyo implantasyonu da azalmaktadır (De Rensis and Scaramuzzi 2003; Alkoyak ve Çetin 2016; Naseer ve ark, 2017).

Bu çalışmada elde edilen bulgular yaz döneminde sıcak stresine bağlı gebelik oranlarının azaldığını, ancak rasyona ilave edilen organik Se içeren yem katkısının gebelikte başarı oranını arttırdığını göstermiştir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kış ve yaz dönemlerinde sütçü ineklerin rasyonlarına farklı konsantrasyonlarda ilave edilen Se'nin organik formunu içeren mineral takviyesinin bazı biyokimyasal kan değerleri (MDA, GSH ve GSH-Px) ve gebelik oranları üzerine etkisinin araştırıldığı bu çalışmada, MDA değerlerinin yaz döneminde kış dönemine göre daha yüksek olduğu, çalışma grupları değerlendirildiğinde de yapılan Se takviyesinin MDA üzerine önemli bir etki göstermediği belirlenmiştir. GSH değerleri açısından elde edilen veriler incelendiğinde özellikle yaz döneminde deneme gruplarının kontrol grubuna göre daha yüksek değerlere sahip olduğu, dolayısıyla yaz döneminde artan stres ile beraber düşmesi beklenen GSH'nin Se takviyesi ile arttırılabileceği, böylelikle antioksidan kapasitenin korunabileceği görülmüştür. GSH-Px değerleri ise yaz döneminde Se takviyesi yapılan deneme gruplarının çalışma sonunda 60. günde kontrol grubuna göre daha yüksek düzeyde bulunduğu, dolayısıyla Se'nin antioksidan mekanizmasında rol oynadığı tespit edilmiştir. Çalışmada kış döneminde belirlenen gebelik oranının yaz dönemine göre daha yüksek olduğu, her iki dönemde de 2. ve 3. deneme gruplarının daha yüksek gebelik oranlarına sahip olduğu görülmüştür. Bununla birlikte sıcak stresinin hâkim olduğu yaz döneminde 2. grubun en yüksek GSH ve GSH-Px düzeyine sahip olduğu, ancak en yüksek gebelik oranının ise 3. gruba ait olduğu tespit edilmiş, yapılan Se takviyesinin hem antioksidan mekanizmayı daha da etkinleştirdiği hem de gebelik oranlarının arttırılmasında faydalı olabileceği kanısına varılmıştır.

Suni tohumlamadan 4 hafta sonra yapılan ultrasonografik muayenelerde gerek mevsim içi gruplar ve gerekse mevsimler arası yapılan karşılaştırmalarda gebelik oranları açısından istatistiksel fark olmadığı saptanmıştır. Fakat 60 gün süren 12 g/gün selenyum takviyesinin yapılması ile gebelik oranlarında kontrol grubuna göre yazın %6,7 kışın ise %20 artış görülmesi bu kısa süreli beslenme stratejisinin sıcak stresine bağlı gebelik oranlarındaki düşüşleri önleyebileceği kanaatine varılmıştır.

Bu çalışmanın her iki döneminde de Se ilavesi yapılan grupların gebelik oranının daha yüksek olması Se'nin fertilité üzerine olumlu etkisini ortaya koymaktadır. Yaz döneminde belirlenen gebelik oranının kış döneminden daha düşük olmasının sıcak stresi kaynaklı olduğu kanaatine varılmıştır. Bununla birlikte yaz döneminde elde edilen gebelik oranlarının diğer gruplara göre 3. grupta daha yüksek olması Se'nin gebelik oranı üzerine olumlu etkisi bulunduğunu ancak bu etkisini belirli bir konsantrasyondan sonra gösterdiğini



düşündürmektedir. Bu bağlamda sıcak stresi altındaki hayvanlarda gebelik oranlarının düştüğüne dair birçok yayın bulunmasına rağmen yaptığımız çalışmada kış ve yaz dönemleri gebelik oranlarında istatistiksel fark görülmemesi bu kısa süreli beslenme rejiminin en azından bu etkiye bağlı düşüşleri ortadan kaldırabildiğini göstermektedir.

Çalışma çerçevesinde yapılan literatür taramasında diğer araştırmalarda elde edilen bulgular ile çalışmanın bulguları arasında görülen farklılıkların çalışma gruplarındaki ineklerin sayılarından, ırkından, yaşından, stres intoleransından, çalışmanın yapıldığı zamandan, coğrafik şartlardan ve kullanılan rasyonlardan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Elde edilen veriler dahilinde oksidatif savunma mekanizmasını geliştirmek ve gebelik oranını arttırmak için sadece rasyona ilave edilen Se'nin yeterli olmayacağı unutulmamalıdır. Bunun haricinde hayvanların verim özellikleri ve laktasyon periyotları göz önüne alınarak rasyonlar hazırlanmalı, hayvanlar doğrudan güneş ışığı almamalı, gerek görülen durumlarda fanlar yardımıyla ek serinletme uygulanmalı, hayvanların içme suyu kalitesinde serin suya sınırsız erişiminin sağlanması gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

- Agarwal A, Allamaneni SSR.** Role of free radicals in female reproductive diseases and assisted reproduction. *Reproductive Biomedicine Online* 2004, 9(3), 338-347.
- Agarwal A, Gupta S, Sharma RK.** Role of oxidative stres in female reproduction. *Reproductive Biology and Endocrinology* 2005, 3, 28.
- Akkuş İ.** Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Basım Yayım ve Dağıtım, Konya, 1995.
- Alfonso-Prieto M, Vidossich P, Rovira C.** The reaction mechanisms of heme catalases: An atomistic view by *ab initio* molecular dynamics. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2012, 525, 121-130.
- Alkoyak K, Çetin O.** Süt sığırlarında sıcaklık stresi ve korunma yolları. *Bahri Dağdaş Hayvancılık Araştırma Dergisi* 2016, 5(1), 40-55.
- Alnimer M, De Rosa G, Grasso F, Napolitano F, Bordi A.** Effect of climate on the response to three oestrous synchronisation techniques in lactating dairy cows. *Animal Reproduction Science* 2002, 71, 157-168.
- Anke M, Angelow L, Groppel B, Arnhold W, Gruhn K.** The effect of selenium deficiency on reproduction and milk performance of goats. *Archiv fur Tierernahrung* 1989, 39(4-5), 483-490.
- Armstrong DV.** Heat stress interaction with shade and cooling. *Journal of Dairy Science* 1994, 77(7), 2044-2050.
- Arthur JR.** Selenium metabolism and function. *Proceedings of The Nutrition Society* 1992, 17, 91-988.
- Ayaşan T, Karakozak E.** Hayvan beslemede beta karoten kullanılması ve etkileri. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2010, 16(4), 697-705.

**Azawi OI.** Postpartum uterine infection in cattle. *Animal Reproduction Science* 2008, 105, 187-208.

**Beagley JC, Whitman KJ, Baptiste KE, Scherzer J.** Physiology and treatment of retained fetal membranes in cattle. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2010, 24, 261-268.

**Beckett GJ, Arthur JR.** Selenium and endocrine systems. *Journal of Endocrinology* 2005, 184, 455-465.

**Bendich A.** Physiological role of antioxidants in the immune system. *Journal of Dairy Science* 1993, 76(9), 2789-2794.

**Berchieri-Ronchi CB, Presti PT, Ferreira ALA, Correa CR, Salvadori DMF, Damasceno DC, Yeum KJ.** Effects of oxidative stress during human and animal reproductions. *International Journal of Nutrology* 2015, 8(1), 6-11.

**Berman A, Folman Y, Kaim M, Mamen M, Herz Z, Wolfenson D, Arieli A, Graber Y.** Upper critical temperatures and forced ventilation effects for high-yielding dairy cows in a subtropical climate. *Journal of Dairy Science* 1985, 68, 1488-1495.

**Bernabucci U, Ronchi B, Lacetera N, Nardone A.** Markers of oxidative status in plasma and erythrocytes of transition dairy cows during hot season. *Journal of Dairy Science* 2002, 85, 2173-2179.

**Beutler E, Dubon O, Kelly BM.** Improved method for the determination of blood glutathione. *Journal of Laboratory Clinical Medicine* 1963, 61, 882-888.

**Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt KV.** Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a Review. *Annals of Botany* 2003, 91, 179-194.

**Brenneisen P, Steinbrenner H, Sies H.** Selenium, oxidative stress, and health aspects. *Molecular Aspects of Medicine* 2005, 26(4-5), 256-267.

**Brown KM, Arthur JR.** Selenium, selenoproteins and human health: a review. *Public Health Nutrition* 2001, 4(2B), 593-599.

**Burk RF, Hill KE, Motley AK.** Selenoprotein metabolism and function: evidence for more than one function for selenoprotein P. *The Journal of Nutrition* 2003, 133, 1517-1520.

**Calamari L, Petrera F, Bertin G.** Effects of either sodium selenite or Se yeast (Sc CNCM I-3060) supplementation on selenium status and milk characteristics in dairy cows. *Livestock Science* 2010, 128, 154-165.

**Calamari L, Petrera F, Abeni F, Bertin G.** Metabolic and hematological profiles in heat stressed lactating dairy cows fed diets supplemented with different selenium sources and doses. *Livestock Science* 2011, 142, 128-137.

**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), 2693-2709.

**Cao G, Prior RL.** Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. *Clinical Chemistry* 1998; 44(6 Pt 1), 1309-1315.

**Castillo C, Hernández J, Valverde I, Pereira V, Sotillo J, López AM, Benedito JL.** Plasma malonaldehyde (MDA) and total antioxidant status (TAS) during lactation in dairy cows. *Research in Veterinary Science* 2006, 80, 133-139.

**Celi P.** Biomarkers of oxidative stress in ruminant medicine. *Immunopharmacology and Immunotoxicology* 2011, 33(2), 233-240.

**Cerri RLA, Rutigliano HM, Lima FS, Araujo DB, Santos JEP.** Effect of source of supplemental selenium on uterine health and embryo quality in high-producing dairy cows. *Theriogenology* 2009, 71, 1127-1137.

**Ceylan A, Serin İ, Aksit H, Seyrek K.** Concentrations of some elements in dairy cows with reproductive disorders. *Bulletin of The Veterinary Institute in Pulawy* 2008, 52(1), 109-112.

**Chauhan SS, Celi P, Ponnampalam EN, Leury BJ, Liu F, Dunshea FR.** Antioxidant dynamics in the live animal and implications for ruminant health and product (meat/milk) quality: role of vitamin E and Selenium. *Animal Production Science* 2014a, 54(10), 1525-1536.

**Chauhan SS, Celi P, Leury BJ, Clarke IJ, Dunshea FR.** Dietary antioxidants at supranutritional doses improve oxidative status and reduce the negative effects of heat stress in sheep. *Journal of Animal Science* 2014b, 92(8), 3364-3374.

**Chew BP, Park JS.** Carotenoid action on the immune response. *Journal of Nutrition* 2004, 134(1), 257-261.

**Corah LR, Ives S.** The effects of essential trace minerals on reproduction in beef cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 1991, 7(1), 41-57.

**Coşkun B, Şeker E, İnal F.** Yemler ve Teknolojisi. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi. Konya. 2000.

**Çaylak E.** Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. *Tıp Araştırmaları Dergisi* 2011, 9(1), 73-83.

**Çolakoğlu HE, Yazlık MO, Kaya U, Çolakoğlu EÇ, Kurt S, Öz B, Bayramoğlu R, Vural MR, Küplülü Ş.** MDA and GSH-Px activityin transition dairy cows under seasonal variations and their relationship with reproductive performance. *Journal of Veterinary Research* 2017, 61, 497-502.

**Dargel, R.** Lipid peroxidation-a common pathogenetic mechanism? *Experimental and Toxicologic Pathology* 1992, 44(4), 169-181.

**De Rensis F, Scaramuzzi RJ.** Heat stress and seasonal effects on reproduction in dairy cow. *Theriogenology* 2003, 60, 1139-1151.

**Deveci HA, Güven A.** Mastitisli ineklerde kan MDA ve GSH düzeylerinin araştırılması. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2008, 14(1), 63-66.

**Deveci HA.** Mastitli (Meme İltihabı) İneklerde Kan MDA ve GSH Düzeylerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars 2009, 21-22.

**Dikmen S, Hansen PJ.** Is the temperature-humidity index the best indicator of heat stres in lactating dairy cows in a subtropical environment? *Journal of Dairy Science* 2009, 92,109-116.

**Diñcel D, Dikmen S.**Süt sığırlarında sıcak stresinin tespiti, verim özellikleri üzerine etkileri ve korunma yöntemleri. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2013, 32(1), 19-29.

**Eren V.** Rasyona Eklenen Organik İz Minerallerin Gebe Koyun ve Yeni Doğan Kuzularında Bazı Verim Özelliklerine Etkisi ile Birikim ve Atılım Düzeylerinin Belirlenmesi, Doktora Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın 2009, 14.

**Ergün A, Tuncer ŞD, Çolpan İ, Yalçın S, Yıldız G, Küçükersan MK, Küçükersan S, Şehu A.** Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları. Pozitif Matbaacılık Ltd.Şti. 2. Baskı. Ankara, 2004.

**FDA (US Food and Drug Administration)** Food additives permitted in feed and drinking water of animals: Selenium yeast. *Federal Register* 2003, 68 (170), 52339-52340.

**Fidler AP, Van Devender K.** Heat stress in dairy cattle. *Agriculture and Natural Resources* 2015, 1, 1-6.

**Ganaie AH, Ghasura RS, Mir NA, Bumla NA, Sankar G, Wani SA.** Biochemical and physiological changes during thermal stress in bovines: A review. *Iranian Journal of Applied Animal Science* 2013, 3(3), 423-430.

**Garrel C, Fowler PA, Al-Gubory KH.** Developmental changes in antioxidant enzymatic defences against oxidative stress in sheep placentomes. *Journal of Endocrinology* 2010, 205(1), 107-116.

**Gaughan JB, Mader TL, Holt SM, Lisle A.** A new heat load index for feedlot cattle. *Journal of Animal Science* 2008, 86, 226-234.

**Gelfert CC, Staufenbiel R.** Störungen im haushalt der spurenelemente beim rind aus sicht der bestandsbetruung. *Tierärztliche Praxis* 1998, 26 (6): 55-66.

**Georgieva NV.** Oxidative stres as a factor of disrupted ecological oxidative balance in biological systems. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine* 2005, 8(1), 1-11.

**Gerloff BJ.** Effect of Selenium supplementation on dairy cattle. *Journal of Animal Science* 1992, 70, 3934-3940.

**Ghiselli A, Serafini M, Natella F, Scaccini C.** Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free Radical Biology and Medicine* 2000, 29(11), 1106-1114.

**Gilad E, Meidan R, Berman A, Graber Y, Wolfenson D.** Effect of heat stress on tonic and GnRH-induced gonadotrophin secretion in relation to concentration of estradiol in plasma of cyclic cows. *Journal of Reproduction and Fertility* 1993, 99, 315-321.

**Goff JP, Horst RL.** Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *Journal of Dairy Science* 1997, 80(7), 1260-1268.

**Goff JP.** Major advances in our understanding of nutritional influences on bovine health. *Journal of Dairy Sciences* 2006, 89(4), 1292-1301.

**Gong J, Xiao M.** Effect of organic selenium supplementation on selenium oxidative stress, and antioxidant status in selenium-adequate dairy cows during the periparturient period. *Biological Trace Elements Research* 2018, 186(2), 430-440.

**Grasso PJ, Scholz RW, Erskine RJ, Eberhart RJ.** Phagocytosis, bactericidal activity, and oxidative metabolism of milk neutrophils from dairy cows fed selenium-supplemented and selenium-deficient diets. *American Journal of Veterinary Research* 1990, 51(2), 269-274.

**Guerin P, El Mouatassim S, Menezo Y.** Oxidative stress and protection against reactive oxygen species in the pre-implantation embryo and its surroundings. *Human Reproduction Update* 2001, 7, 175-189.

**Gunter SA, Beck PA, Hallford DM.** Effects of supplementary selenium source on the blood parameters in beef cows and their nursing calves. *Biological Trace Element Research* 2013, 152, 204-211.

**Hall JA, Bobe G, Vorachek WR, Kasper K, Traber MG, Mosher WD, Pirelli GJ, Gamroth M.** Effect of supranutritional organic selenium supplementation on postpartum blood micronutrients, antioxidants, metabolites, and inflammation biomarkers in selenium-replete dairy cows. *Biological Trace Element Research* 2014, 161, 272-287.

**Halliwell B, Gutteridge JMC.** *Free Radicals in Biology and Medicine*. 4th ed. Oxford University Press; 2007.

**Hansen PJ.** To be or not to be; determinants of embryonic survival following heat shock. *Theriogenology* 2007, 68, 40-48.

**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.

**Hefnawy AG, Tortora-Perez JL.** The importance of selenium and the effects of its deficiency in animal health. *Small Ruminant Research* 2010, 89, 185-192.

**Hutjens MF.** <http://livestocktrail.illinois.edu/dairynet/paperDisplay.cfm?ContentID=551> erişim tarihi 09.09.2016.

**Kakkar R, Mantha VS, Radhi J, Prasad K, Karla J.** Increased oxidative stress in rat liver and pancreas during progression of streptozotocin-induced diabetes. *Clinical Science* 1998, 94, 623-632.

**Kankofer M.** Placental release/retention in cows and its relation to peroxidative damage of macromolecules. *Reproduction in Domestic Animals* 2002, 37, 27-30.

**Keen CL, Zidenberg-Cheer S.** Manganese. In present knowledge in nutrition. M.L. Brown Ed. International Life science Institute Nutrition Foundation, Washington, D.C. 1990, s 268-279.

**Khatti A, Mehrotra S, Patel PK, Singh G, Maurya VP, Mahla AS, Chaudhari RK, Das GK, Singh M, Sarkar M, Kumar H, Krishnaswamy N.** Supplementantion of vitamin E, selenium and increased energy allowance mitigates the transition stress and improves postpartum reproductive performance in the crossbred cow. *Theriogenology* 2017, 104, 142-148.

**Kılınç ÖÖ.** İlave Organik ve İnorganik Selenyum Preparatlarının ve İlave Vitamin E'nin Yumurta Tavuklarında verim ve Bazı Kan Parametrelerine, Yumurta Selenyum İçeriğine ve Plazma Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivitesine Etkisinin Belirlenmesi, Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 2013, 4-44.

**Kirdeci A.** Sıcaklık Stresi Altındaki Sütçü İneklere Uygulanan Vitamin C'nin Bazı Kan Parametrelerine ve Gebelik Oranına Etkisi, Doktora Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın, 2015, 7-11.



**Kocaarslan F.** Sığırlarda Gebeliğin Son Döneminde Uygulanan Vitamin E ve Selenyumun Postpartum Dönem Sorunları Üzerine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın, 2013, 2-3.

**Kommisrud E, Osteras O, Vatn T.** Blood selenium associated with health and fertility in Norwegian dairy herds. *Acta Veterinaria Scandinavica* 2005, 46, 229-240.

**Kreplin C, Yaremcio B.** Effects of nutrition on beef cow reproduction. *Agdex* 1992, 51(1), 1-4.

**Kryzyzewski J, Bagnicka E, Horbanczuk JO.** The effect of selenium supplementation to the diet of dairy cows and goats on production traits and animal health. *Animal Science Papers and Reports* 2014, 32(4), 283-299.

**Kumar S, Pandey AK, Waquar AAR, Dwivedi DK.** Importance of micro minerals in reproductive performance of livestock. *Veterinary World* 2011, 4(5), 230-233.

**Kumar J, Madan AM, Kumar M, Sirohi R, Yadav B, Reddy AV, Swain DK.** Impact of season on antioxidants, nutritional metabolic status, cortisol and heat shock proteins in Haryana and Sahiwal cattle. *Biological Rhythm Research* 2017, 49(1), 29-38.

**Kurokawa Y, Yamashita R, Okita M, Yoshitoshi R, Sugino T, Obitsu T, Kawamura K.** A comparison of plasma glucose and oxidative status in lactating dairy cows in summer and autumn. *Animal Science Journal* 2016, 87, 1212-1217.

**Küçük O.** Selenyum ve Ruminantlarda Kullanımı. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2014, 11(1), 55-61.

**Küçükbaşlan İ.** İz elementler ve ineklerde reproduktif açıdan önemi. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2011, 1(4), 26-35.

**Lykkesfeldt J, Svendsen O.** Oxidants and antioxidants in disease: Oxidative stress in farm animals. *The Veterinary Journal* 2007, 173, 502-511.

**Maher P, Lewerenz J, Lozano C, Torres JL.** A novel approach to enhancing cellular glutathione levels. *Journal of Neurochemistry* 2008, 107(3), 690-700.

**Masella R, Benedetto RD, Rosaria V, Filesi C, Giovannini C.** Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *Journal of Nutritional Biochemistry* 2005, 16, 577-586.

**Matek M, Blanusa M, Grgic J.** Determination of the daily dietary selenium intake in Croatia. *European Food Research and Technology* 2000, 210, 155-160.

**Matés JM, Sanchez-Jimenez F.** Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. *Frontiers in Bioscience* 1999, 4, 339-345.

**Mc Cord JM.** The evolution of free radicals and oxidative stress. *American Journal of Medicine* 2000, 108, 652-659.

**McGuire MA, Beede DK, Collier RJ, Buonomo FC, DeLorenzo MA, Wolcox CJ, Huntington GB, Reynolds CK.** Effect of acute thermal stress and amount of feed intake on concentrations of somatotropin, insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-II, and thyroid hormones in plasma of lactating Holstein cows. *Journal of Animal Science* 1991, 69, 2050-2056.

**McKenzie RL, Rafferty TS, Beckett GJ.** Selenium: an essential element for immune function. *Immunology Today* 1998, 19(8), 342-345.

**Megahed GA, Anwar MM, Wasfy SI, Hammadeh ME.** Influence of heat stress on the cortisol and oxidant-antioxidants balance during oestrous phase in Buffalo-Cows (*Bubalus bubalis*): Thermo-protective role of antioxidant treatment. *Reproduction in Domestic Animals* 2008, 43, 672-677.

**Mehdi Y, Hornick JL, Istasse L, Dufresne I.** Selenium in the environment, metabolism and involvement in body functions. *Molecules* 2013, 18, 3292-3311.

**Mehdi Y, Dufresne I.** Selenium in cattle. *Molecules* 2016, 21, 545-559.

**Miller JK, Brzezinska-Slebodzinska E, Madsen FC.** Oxidative stress, antioxidants, and animal function. *Journal of Dairy Science* 1993, 76(9), 2812-2823.

**Murray RK, Granner DK, Mayes RA, Rodwell VW.** Fizyolojik Öneme Sahip Lipidler, Harper'ın Biyokimyası. Yirmidördüncü baskı, Barış Kitabevi, İstanbul 1996.

**Myatt L, Cui X.** Oxidative stress in the placenta. *Histochemistry and Cell Biology* 2004, 122(4), 369-382.

**Naseer Z, Ahmad E, Epikmen ET, Ucan U, Boyacioglu M, Ipek E, Aksoy M.** Quercetin supplemented diet improves follicular development, oocyte quality, and reduces ovarian apoptosis in rabbits during summer heat stress. *Theriogenology* 2017, 96, 136-141.

**Niki E, Noguchi N.** Evaluation of antioxidant capacity. What capacity is being measured by which method? *IUBMB Life* 2000, 50(4-5), 323-329.

**NRC (US National Research Council).** Nutrient requirements of dairy cattle: 7th ed. National Research Council, National Academy of Science, National Academic Press, Washington, DC 2001, s 105-146.

**NRC (US National Research Council).** Mineral tolerance of animals: Second Revised Edition. Committee on minerals and toxic substances in diets and water for animals. National Research Council, National Academy of Science, National Academies Press, Washington, DC 2005, s 510.

**Olson JD.** The role of selenium and vitamin E in mastitis and reproduction of dairy cattle. *Cattle Practice* 1995, 3, 47-9.

**Özcan O, Erdal H, Çakırca G, Yönden Z.** Oxidative stress and its impacts on intracellular lipids, proteins and DNA. *Journal of Clinical and Experimental Investigations* 2015, 6(3), 331-336.

**Özhan M, Tüzemen N, Yanar M.** Büyükbaş Hayvan Yetiştirme. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Erzurum, 2001, s 604.

**Özkul H, Şayan Y, Polat M.** Ruminantların beslenmesinde organik iz mineraller. *Hayvansal Üretim* 2003, 44(1), 37-43.

**Payne CM, Bernstein C, Bernstein H.** Apoptosis overview emphasizing the role of oxidative stress, DNA damage and signal transduction pathways. *Leukemia & Lymphoma* 1995, 19(1-2), 43-93.

**Payne RL.** The Effects of Inorganic and Organic Selenium Sources on Growth Performance, Carcass Traits, Tissue Mineral Concentrations and Enzyme Activity in Poultry. PhD thesis, Louisiana State University, Baton Rouge 2004, 5-9.

**Riley PA.** Free radicals in biology: oxidative stress and the effects of ionizing radiation. *International Journal of Radiation Biology*, 1994, 65(1), 27-33.

**Rivera RM, Hansen PJ.** Development of cultured bovine embryos after exposure to high temperatures in the physiological range. *Reproduction* 2001, 121, 107-115.

**Róth E.** Oxygen free radicals and their clinical implications. *Acta Chirurgica Hungarica* 1997, 36(1-4), 302-305.

**Roth Z, Meidan R, Braw-Tal R, Wolfenson D.** Immediate and delayed effects of heat stress on follicular development and its association with plasma FSH and inhibin concentration in cows. *Journal of Reproduction and Fertility* 2000, 120, 83-90.

**Roth Z, Meidan R, Shaham-Albalancy A, Braw-Tal R, Wolfenson D.** Delayed effect of heat stress on steroid production in medium-sized and preovulatory bovine follicles. *Reproduction* 2001a, 121, 745-751.

**Roth Z, Arav A, Bor A, Zeron Y, Braw-Tal R, Wolfenson D.** Improvement of quality of oocytes collected in the autumn by enhanced removal of impaired follicles from preovulatory heat stressed cows. *Reproduction* 2001b, 122, 737-744.

**Rutigliano HM, Lima SF, Cerri RLA, Greco LF, Vilela JM, Magalhaes V, Hillegass J, Tahatcher WW, Santos JEP.** Effects of source of supplemental Se and method of presynchronization on reproduction and lactation of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2006, 89 (1), 151.

**Rutigliano HM, Lima SF, Cerri RLA, Greco LF, Vilela JM, Magalhaes V, Silvestre FT, Tahatcher WW, Santos JEP.** Effects of method of presynchronization and source of selenium on uterine health and reproduction in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2008, 91, 3323-3336.

**Saeed S.** Effect of Selenium Supplementation from Various Dietary Sources on the Antioxidant and Selenium Status of Dairy Cows and Trace Element Status in Dairy Herds, PhD Thesis, University of Berlin Humboldt, Berlin 2010, 3.

**Sakatani M, Balboula AZ, Yamanaka K, Takahashi M.** Effect of summer heat environment on body temperature, estrous cycles and blood antioxidant levels in Japanese Black cow. *Animal Science Journal* 2012, 83(5), 394-402.

**Samal L.** Heat stress in dairy cows-reproductive problems and control measures. *International Journal of Livestock Research* 2013, 3: 14-23.

**Seaward BL.** Essentials of Managing Stress. 3rd ed. Burlington. Jones & Bartlett Learning, 2014, s 6-13.

**Segerson EC, Libby DW.** Ova fertilisation and sperm number per fertilised ovum for selenium and vitamin E treated Charolais cattle. *Theriogenology* 1982, 17(3), 333-41.

**Serin G, Kiral F, Serin I.** Acute effect of ovariohysterectomy on lipid peroxidation and some antioxidant levels in dogs. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* 2008, 52, 251-253.

**Sezer K, Keskin M.** Serbest oksijen radikallerinin hastalıkların patogenezisindeki rolü. *Firat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2014, 28(1), 49-56.

**Sharma N, Singh NK, Singh OP, Pandey V, Verma PK.** Oxidative stress and antioxidant status during transition period in dairy cows. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 2011, 24(4), 479-484.

**Sies H.** Biochemistry of oxidative stress. *Angewandte Chemie International Edition English* 1986, 25, 1058-1071.

**Silvestre FT, Rutigliano HM, Thatcher WW, Santos JEP, Staples CR.** Effect of selenium source on production, reproduction, and immunity of lactating dairy cows. Florida Ruminant Nutrition Symposium, January 30-31, 2007, Best Western Gateway Grand, Gainesville, FL.

**Smith OB, Akinbamijo OO.** Micronutrients and reproduction in farm animals. *Animal Reproduction Science* 2000, 60-61, 549-60.

**Sordillo LM, Aitken SL.** Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2009, 128, 104-109.

**Spears JW.** Micronutrients and immune function in cattle. *Proceedings of the Nutrition Society* 2000, 59(4), 587-94.

**Spears JW, Weiss WP.** Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows. *The Veterinary Journal* 2008, 176, 70-76.

**Splettstoesser WD, Schuff-Werner P.** Oxidative stress in phagocytes “the enemy within”. *Microscopy Research and Technique* 2002, 57(6), 441-455.

**Sugino N.** Roles of reactive oxygen species in the corpus luteum. *Animal Science Journal* 2006, 77, 556-565.

**Sun LL, Gao ST, Wang K, Xu JC, Sanz-Fernandez MV, Baumgard LH, Bu DP.** Effects of source on bioavailability of selenium, antioxidant status, and performance in lactating dairy cows during oxidative stress-inducing conditions. *Journal of Dairy Science* 2019, 102, 311-319.

**Suttle NF, Jones DG.** Recent developments in trace element metabolism and function: trace elements. Disease resistance and immune responsiveness in ruminants. *Journal of Nutrition* 1989, 119(7), 1055-1061.

**Takahashi M, Keicho K, Takahashi H, Ogawa H, Schultz RM, Okano A.** Effect of oxidative stress on development and DNA damage in-vitro cultured bovine embryos by comet assay. *Theriogenology* 2000, 54, 137-145.

**Takahashi M.** Heat stress on reproductive function and fertility in mammals. *Reproductive Medicine and Biology*, 2012, 11, 37-47.

**Tanaka M, Miyazaki T, Taginaki S, Kasai K, Minegishi K, Miyakoshi K, Ishimoto H, Yoshimura Y.** Participation of reactive oxygen species in PGF<sub>2α</sub> induced apoptosis in rat luteal cells. *Journal of Reproduction and Fertility* 2000, 120, 1-239-245.

**Tietz WN.** Measurement of plasma hemoglobin. *Fundamental of Clinical Chemistry*, Saunders Company, 1987, s 805-806.

**Todorovic MJ, Davidovic V, Rasovic MB.** The effects of some microelements supplementation-Selenium, Zinc and Copper into dairy cows feeds on their health and reproductive performances. *Biotechnology in Animal Husbandry* 2016, 32(2), 101-110.

**Topuzoğlu B, Baştan A.** Sütçü ineklerde ısı stresinin döl verimi üzerine etkisi. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi* 2010, 81(2), 29-32.

**Üstün Z.** SıcakStresi Altındaki Süt İneklerinde Tohumlama Protokolü Sonrası Epidural GnRH Uygulamasının Gebelik Oranı Üzerine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın, 2011,7-8.

**Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J.** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 2007, 39, 44-84.

**Vazquez-Armijo JF, Rojo R, Salem AZM, Lopez D, Tinoco JL, Gonzalez A, Pescador N, Dominguez-Vara IA.** Trace elements in sheep and goat reproduction: a review. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 2011, 14, 1-13.

**Victor VM, Rocha M, De La Fuente M.** Immunecells: free radicals and antioxidants in sepsis. *International Immunopharmacology* 2004, 4(3), 327-347.

**WEB\_1** (2019). T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Hayvancılık Genel Müdürlüğü <https://www.tarimorman.gov.tr/HAYGEM> (14.08.2019).

**WEB\_2** (2019). T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Meteoroloji Genel Müdürlüğü <https://www.mgm.gov.tr/veridegerlendirme/il-ve-ilceler-istatistik.aspx?m=AYDIN> (8.8.2019)

**Weiss WP.** Selenium sources for dairy cattle. Tri-State Dairy Nutrition Conference, s 61-71, May 2 and 3 2005, Indiana, USA.

**Weiss WP, Spears JW.** Vitamin and trace mineral effects on immune function of ruminants. In: Sejrnsen K, Hvelplund T, Nielsen MO, eds. Ruminant Physiology. Wageningen Academic Publishers, Utrecht, The Netherlands, 2006, s 473-496.

**Winterbourn CC, Hawkins RE, Brain M, Carrel W.** The estimation of red cell superoxide dismutase activity. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 1975, 55, 337-341.

**Wolfenson D, Thatcher WW, Badinga L, Savio JD, Meidan R, Lew BJ, Brawtal R, Berman A.** Effect of heat stress on follicular development during the estrous cycle in lactating dairy cattle. *Biology of Reproduction* 1995, 52, 1106-1113.

**Wolfenson D, Lew BJ, Thatcher WW, Graber Y, Meidan R.** Seasonal and acute heat stress on steroid production by dominant follicles in cows. *Animal Reproduction Science* 1997, 47, 9-19.

**Wolfenson D, Roth Z, Meidan R.** Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspects. *Animal Reproduction Science*, 2000, 60, 535-547.

**Wolfenson D, Sonogo H, Bloch A, Shaham-Albalancy A, Kaim M, Folman Y, Meidan R.** Seasonal differences in progesterone production by luteinized bovine theca and granulosa cells. *Domestic Animal Endocrinology* 2002, 22, 81-90.

**Yattoo MI, Dimri U, Sharma MC.** Seasonal changes in certain blood antioxidants in cattle and buffaloes. *Indian Journal of Animal Sciences* 2014, 84(2), 173-176.

**Yerer MB, Aydoğan S.** Oksidatif stres ve antioksidanlar. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2000, 9(1), 49-53.

**Yoshiko T, Kawada K, Shimada T.** Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against active oxygen toxicity in the blood. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 1979, 135, 372-376.

**Ziaei N.** Effect of selenium and vitamin E supplementation on reproductive indices and biochemical metabolites in Raieni goats. *Journal of Applied Animal Research* 2015, 43(4), 426-430.

**Zonturlu AK, Üren N, Özyurtlu N, Bozkurt G, Alpaslan BM.** Retensiyon sekondinerumlu ineklerde yaş, süt verimi, vücut kondüsyon skoru ve kan serumu selenyum düzeylerinin karşılaştırılması. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2008, 22(3), 127-130.



## ÖZGEÇMİŞ

**Soyadı, Adı** : KIZANLIK Can  
**Uyruk** : T.C.  
**Doğum yeri ve tarihi:** Meriç/EDİRNE-07.08.1987  
**Telefon** : 05325084104  
**E-mail** : ckizanlik@hotmail.com  
**Yabancı Dil** : İngilizce

### EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Doktora	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	Devam Ediyor
Lisans	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	2010

### İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2011-2012	Genotek Ltd. Şti.	Veteriner Hekim
2012-2015	Tire Yöre Veterinerlik Hizmetleri San. Tic. Ltd. Şti.	Veteriner Hekim
2015-2017	Beta Ecza Deposu	Satış Müdürü
2017-2019	Biopharm Ltd. Şti.	Satış Koordinatörü
2019-	Çelikçesa Masterrind Genetik Türkiye Ltd. Şti.	Satış Koordinatörü