



T.C.  
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
VETERİNER FAKÜLTESİ  
HAYVAN BESLEME VE  
BESLENME HASTALIKLARI  
ANABİLİM DALI



ÜZÜM ÇEKİRDEĞİ EKSTRAKTININ SICAK STRESİ ALTINDAKİ  
HOLSTEİN IRKI BUZAĞILARDA BÜYÜME PERFORMANSI VE  
OKSİDATİF STRES ÜZERİNE ETKİSİ

EMİN ÜRKMEZ

(DOKTORA TEZİ)

BURSA-2022





T.C.  
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
VETERİNER FAKÜLTESİ  
HAYVAN BESLEME VE BESLENME  
HASTALIKLARI ANABİLİM DALI



**ÜZÜM ÇEKİRDEĞİ EKSTRAKTININ SICAK STRESİ ALTINDAKİ  
HOLSTEİN IRKI BUZAĞILARDA BÜYÜME PERFORMANSI VE  
OKSİDATİF STRES ÜZERİNE ETKİSİ**

**EMİN ÜRKMEZ**

**(DOKTORA TEZİ)**

**DANIŞMAN:**

**Prof.Dr. Hakan BİRİCİK**

**TGA-2021-371- Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi**

**BURSA-2022**

**T.C.  
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ETİK BEYANI**

Doktora tezi olarak sunduğum “Üzüm Çekirdeği Ekstraktının Sıcak Stresi Altındaki Holstein Irkı Buzağılarda Büyüme Performansı ve Oksidatif Stres Üzerine Etkisi” adlı çalışmanın, proje safhasından sonuçlanmasına kadar geçen bütün süreçlerde bilimsel etik kurallarına uygun bir şekilde hazırlandığını ve yararlandığım eserlerin kaynaklar bölümünde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir ve beyan ederim.

**Emin ÜRKMEZ**

..../..../.....

**İmza**

## TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU

...../...../.....

**Adı Soyadı:** Emin Ürkmez

**Anabilim Dalı:** Veteriner Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı

**Tez Konusu:** Üzüm Çekirdeği Ekstraktının Sıcak Stresi Altındaki Holstein Irkı Buzağılarda Büyüme Performansı ve Oksidatif Stres Üzerine Etkisi

<u>ÖZELLİKLER</u>	<u>UYGUNDUR</u>	<u>UYGUN DEĞİLDİR</u>	<u>ACIKLAMA</u>
Tezin Boyutları	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Dış Kapak Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
İç Kapak Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Kabul Onay Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Düzeni	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
İçindekiler Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Yazı Karakteri	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Satır Aralıkları	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Başlıklar	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Numaraları	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Eklerin Yerleştirilmesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Tabloların Yerleştirilmesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Kaynaklar	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

### DANIŞMAN ONAYI

**Unvanı Adı Soyadı:** Prof. Dr. Hakan Biricik

**İmza:**

## İÇİNDEKİLER

Dış Kapak	
İç Kapak	
ETİK BEYAN.....	II
KABUL ONAY.....	III
TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
TÜRKÇE ÖZET.....	VII
İNGİLİZCE ÖZET.....	VIII
1. GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Buzağı Besleme.....	5
2.1.1. Buzağuların Süt veya Süt İkame Yemiyle Beslenmesi.....	5
2.1.2. Katı Yemlerle Besleme.....	6
2.1.3. Buzağuların Sütten Kesilmesi.....	8
2.2. Sıcak Stresi.....	9
2.2.1. İklim Değişimi.....	9
2.2.2. Sıcak Stresinin Tespiti.....	10
2.2.2.1. Sıcaklık - Nem İndeksi (SNİ).....	11
2.2.3. Sıcak Stresinin Oluşturduğu Etkiler.....	14
2.2.3.1. Oksidatif Stres.....	14
2.2.3.1.1 Anitoksidan Enzimler ve Lipit Peroksidasyonu.....	15
2.2.3.2 Sıcak Stresinin Gastrointestinal Sistemde Yarattığı Etkiler.....	16
2.2.3.3. Sıcak Stresinin Fizyolojik Parametrelere Etkisi.....	19
2.2.3.4. Sıcak Stresinin Nöro-Endokrin Sisteme Etkileri.....	21
2.2.3.5. Sıcak Stresinin Hematolojik Parametrelere Etkisi.....	25
2.2.3.6. Sıcak Stresinin Biyokimyasal Parametrelere Etkisi.....	26
2.2.3.7. Sıcak Stresinin Hücresel ve Moleküler Etkileri.....	30
2.2.3.8. Sıcak Stresinin Asit-Baz Dengesine Etkileri.....	31
2.2.3.9. Sıcak Stresinin Rumen Fizyolojisi, Mikrobiyotası ve Fermantasyonuna Etkisi.....	31
2.2.3.10. Sıcak Stresinin Davranış Üzerine Etkisi.....	33
2.2.3.11. Sıcak Stresinin Performans Parametrelerine Etkisi.....	34
2.2.4. Sıcak Stresini Hafifletme ve Korunma Yöntemleri.....	37
2.2.4.1. Çevresel stratejiler.....	37
2.2.4.1.1. Buzağularda Sıcaklık Yükünü Azaltmaya Yönelik Çevresel Stratejiler.....	37
2.2.4.2. Sıcaklığa Dayanıklı Genlerin Seçimi.....	39
2.2.4.3. Sıcak Stresini Azaltmak İçin Beslenme Yönetimleri.....	40
2.2.4.3.1.Rasyon Kompozisyonundaki Değişiklikler ve Su İlavesi.....	40
2.2.4.3.2.Vitamin, Mineral ve Maya İlavesi.....	41
2.2.4.3.3. Alternatif Yem Katkı Maddeleri ve Bitkisel Ekstraktlar.....	42
2.3. Üzüm Çekirdeği Ekstraktı.....	43
2.3.1. Üzümde Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması, Kimyasal Bileşimi ve Dağılımı.....	43
2.3.2. Fenolik Bileşiklerin Üzümde Ekstraksiyonu, Saflaştırılması ve Tanımlanması.....	45
2.3.4. Üzüm Polifenollerinin Sindirimi, Emilimi ve Metabolizması.....	46

2.3.5. Üzüm Çekirdeği Polifenollerinin Antioksidan Aktivitesi.....	49
2.3.6. Üzüm Çekirdeği Polifenollerinin İnflamasyon Üzerine Etkisi.....	50
2.3.7. Üzüm Çekirdeği Polifenollerinin Karbonhidrat ve Lipid Metabolizmasına Etkisi.....	51
2.3.8. Üzüm Çekirdeği Polifenollerinin Serum Karaciğer Enzimleri Etkileri.....	52
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>	<b>53</b>
3.1. Deneme yeri.....	53
3.2. Sıcaklık ve Nem Ölçümleri.....	54
3.3. Deneme Hayvanlarının Bakım Beslenmesi ve Grupların Oluşturulması.....	54
3.4. Denemede Kullanılan Yemlerinin Analizleri.....	56
3.5. Kuru Madde Tüketiminin Belirlenmesi.....	58
3.6. Canlı Ağırlık Artışının Belirlenmesi.....	58
3.7. Yemden Yararlanma Oranının Belirlenmesi.....	59
3.8. Sıcak Stresi Altındaki Buzağılarda Fizyolojik Parametrelerin Değerlendirilmesi.....	59
3.9. Fekal Örneklerin Alınması ve Fekal Uçucu Yağ Asidi Analizi.....	60
3.10. Kan Örneklerinin Alınması.....	61
3.11. Hemogram (Tam Kan Sayımı) Analizinin Yapılması.....	61
3.12. Kan Serumundan Biyokimyasal Parametrelerin Ölçülmesi.....	62
3.13. Kan Plazmasından Antioksidan Parametrelerin Ölçülmesi.....	62
3.14. Kan Plazmasından Sitokin Seviyelerinin Ölçülmesi.....	62
3.15. Kan Plazmasından Akut Faz Proteinleri Düzeyinin Belirlenmesi.....	63
3.16. Kan Plazmasından İnsulin, Kortizol ve Leptin Seviyelerinin Ölçülmesi.....	63
3.17. Üzüm Çekirdeği Ekstraktı Eldesi ve Analizi.....	63
3.18. İstatistiksel Analiz.....	64
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>66</b>
4.1. Büyüme Performansı ve Yem Tüketimi.....	66
4.2. Plazma Antioksidan ve Sitokin Konsantrasyonları.....	69
4.3. Kan Metabolitleri ve Endokrin Tepkiler.....	72
4.4. Hematolojik Parametreler.....	75
4.5. Fekal Fermentasyon Parametreleri.....	78
4.6. Fizyolojik Parametreler.....	80
<b>5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....</b>	<b>82</b>
<b>6. KAYNAKLAR.....</b>	<b>92</b>
<b>7. SİMGE VE KISALTMALAR.....</b>	<b>123</b>
<b>8. EKLER.....</b>	<b>124</b>
<b>9. TEŞEKKÜR.....</b>	<b>127</b>
<b>10. ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>128</b>

## TÜRKÇE ÖZET

Bu araştırmanın amacı, sıcak stresi altındaki Holstein ırkı buzağılarda üzüm çekirdeği ekstraktı (ÜÇE) takviyesinin; büyüme performansı, antioksidan aktivite, inflamasyon, kan metabolitleri, fekal uçucu yağ asitleri (UYA), hematolojik ve fizyolojik parametreler üzerindeki etkilerini araştırmaktır. Araştırmada 60 adet Holstein dişi buzağı (3 günlük) canlı ağırlık ( $40,6 \pm 2,17$  kg) ve kıl örtüsüne göre benzer dört gruba ayrılmıştır. Gruplardaki buzağılara sırasıyla 0 (KON, n=15), 25 (ÜÇE1, n=15), 50 (ÜÇE2, n=15) ve 100 (ÜÇE3, n=15) mg/kg canlı ağırlık dozunda sütle beraber üzüm çekirdeği ekstraktı içirilmiştir. Ağırlık artışlarını belirlemek için buzağılar 15'er gün aralıklarla tartılmıştır. Kan örnekleri 3, 33 ve 63. günlerde alınırken, fekal UYA'yı değerlendirmek için 33 ve 63. günlerde dışkı örnekleri alınmıştır. Rektal sıcaklıklar ve solunum sayıları haftada üç kez ölçülmüştür. Sıcaklık nem indeksi (SNI) değerleri çalışma boyunca 73,2 ile 87,4 arasında değişmiş ve çalışma 63. günde sonlandırılmıştır. Çalışmanın 3-18 ve 33-48 günleri arasına en yüksek günlük canlı ağırlık artışı (GCAA) ÜÇE2 grubundaki buzağılarda gözlenirken, 18-33 ve 48-63 günler arasında en yüksek GCAA ÜÇE3 grubundaki buzağılarda görülmüştür ( $P<0,01$ ). Ayrıca, en yüksek yem tüketimi ÜÇE3 grubundaki buzağılarda gözlenmiştir ( $P<0,01$ ). Plazma malondialdehit (MDA), tümör nekroz faktör alfa (TNF- $\alpha$ ) konsantrasyonları ve solunum sayısı ÜÇE takviyesi yapılan tüm gruplarda azalmıştır ( $P<0,01$ ). KON grubuna kıyasla 33. günde ÜÇE3 grubundaki buzağılarda plazma toplam antioksidan kapasite (TAK) konsantrasyonu artmıştır ( $P=0,02$ ). Öte yandan KON grubuna kıyasla ÜÇE2 ve ÜÇE3 gruplarında süperoksit dismutaz (SOD) konsantrasyonu artarken, bu gruplarda plazma leptin, insulin ve kortizol konsantrasyonları azalmıştır ( $P<0,01$ ). ÜÇE takviyesi yapılan tüm gruplarda hematokrit, hemoglobin ve kırmızı kan hücrelerinin (RBC) miktarı artmıştır ( $P<0,01$ ). Ek olarak ÜÇE3 grubundaki buzağılarda fekal toplam UYA konsantrasyonu artmıştır ( $P<0,01$ ). Sonuç olarak, günlük 50 mg/kg canlı ağırlık dozunda ÜÇE takviyesinin, sıcak stresi altındaki buzağuların sağlık parametreleri ve performansları üzerinde faydalı etkiler yaratarak sıcak stresi etkilerinin hafifletilebileceği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** buzağı, sıcak stresi, üzüm çekirdeği ekstraktı, antioksidan, leptin

## İNGİLİZCE ÖZET

### **Effect of Grape Seed Extract on Growth Performance and Oxidative Stress in Holstein Calves Under Heat Stress**

The aim of this study was to investigate the effects of grape seed extract (GSE) supplementation on growth performance, antioxidant activity, inflammation, blood metabolites, fecal volatile fatty acids (VFA), hematological and physiological parameters in Holstein calves under heat stress. In the study, 60 Holstein female calves (3 days old) were divided into four similar groups according to live weight ( $40.6 \pm 2.17$  kg) and hair cover. GSE was given orally to the calves with milk daily at doses of 0 (CON, n=15), 25 (GSE1, n=15), 50 (GSE2, n=15) and 100 (GSE3, n=15) mg/kg body weight. Calves were weighed at 15-day intervals to determine weight gain. Blood samples were taken on days 3, 33 and 63, while fecal samples were taken on days 33 and 63 to assess fecal VFA. Rectal temperatures and respiratory rates were measured three days a week. Temperature humidity index (THI) values varied between 73,2 and 87,4 throughout the study, and the study was terminated on day 63. Calves were fed GSE2 had the highest average daily gain (ADG) between days 3-18 and 33-48 of the study, while the GSE3 group had the highest ADG between days 18-33 and 48-63 ( $P<0,01$ ). Moreover, calves were fed GSE3 had the highest feed intake over the entire study period ( $P<0,01$ ). Plasma malondialdehyde (MDA), tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) concentrations and respiratory rate were decreased in all groups supplemented with GSE ( $P<0,01$ ). Plasma total antioxidant capacity (TAC) concentration increased ( $P=0,02$ ) in calves were fed GSE3 on day 33 compared to the CON group. Plasma superoxide dismutase (SOD) concentrations increased in calves were fed GSE2 and GSE3 compared to the CON group, while plasma leptin, insulin and cortisol concentrations decreased ( $P<0,01$ ). The hematocrit percentage, hemoglobin value and red blood cells (RBC) count increased in all groups supplemented with GSE ( $P<0,01$ ). In addition, fecal total VFA concentration increased in calves were fed GSE3 ( $P<0,01$ ). It was concluded that supplementation with 50 mg/kg BW/d GSE could alleviate the effects of heat stress by creating beneficial effects on the health parameters and performances of calves under heat stress.

**Keywords:** calf, heat stress, grape seed extract, antioxidant, leptin



## 1. GİRİŞ

Dünyadaki sığır varlığı Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü'nün (FAO, 2020) verilerine göre 2019 yılında 1,3 milyar baş olarak belirlenmiştir. 2020 yılında dünya genelinde 860 milyon ton süt üretilmiş olup, dünyadaki süt üretiminin %81'i inek sütünden, geri kalan üretim ise %15 manda ve % 4 keçi, koyun ve deve sütünden elde edilmiştir (FAO, 2020). Süt üretiminin %32'si Asya, %24'ü Avrupa Birliği, %18'inin Kuzey ve Orta Amerika ülkelerinden karşılanmaktadır (FAO, 2020). Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) Haziran ayı 2022 verilerine göre ise ülkemizdeki sığır varlığının 17 milyon 693 bin baş olduğu açıklanmıştır. Ülkemizde 2021 yılında toplam 6 milyon 877 bin sağmal hayvan olup 23 milyon ton süt üretilmiştir (TÜİK, 2022). Toplam süt üretiminin %92,1'i inek, %7,6'sı koyun-keçi, %0,3'ü ise manda sütünden oluşmaktadır. Süt sektörü, her yıl artan rakamlarla insanların beslenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Dünya nüfusunun %80'inden fazlası düzenli olarak sıvı süt veya diğer süt ürünlerini tüketmektedir. Artan dünya nüfusu ve tüketim alışkanlıklarındaki değişiklikler süt talebini arttırmaya devam etmektedir.

Süt sığır işletmelerinde sürü sağlığı yönetiminde ve sürü devamlılığının sağlanmasında en önemli unsurlardan biri sağlıklı buzağuların yetiştirilmesidir. Buzağular bir işletmenin geleceğidir. Bir süt sığır çiftliğindeki hayvanların her yıl yaklaşık olarak %25'i düşük süt ve döl verimi, meme bozuklukları, hastalıklar, yaşlılık veya yetersiz büyüme gibi nedenlerden dolayı sürüden çıkarılmaktadır. Sürü performansını iyileştirmek ve sürü büyüklüğünü sabit tutmak için, sürüden çıkarılanların yerini sağlıklı ve verim gücü yüksek buzağuların alması gerekmektedir.

Günümüzde iklimsel değişkenlerin daha geniş etki alanlarına ulaşmasından dolayı, olumsuz çevre koşullarının etkileri yüksek verime sahip entansif üretimin yapıldığı işletmelerdeki hayvanlarda daha fazla önem taşımaktadır. Bu yüzden süt sığırlarından beklenen verimin alınabilmesi için optimum çevre koşullarının sağlanması gerekmektedir. Sığırlar için ideal hava sıcaklığı aralığı 5-25°C'dir ve 25°C'den sonra sıcaklıktan olumsuz etkilenmeye başlarlar (Roefeldt, 1998). Süt

sığırlarında özellikle süt verimi yönünden üstün özelliklere sahip olan Holstein ırkları sıcak stresinden çok fazla etkilenmektedir (Dinçel, & Dikmen, 2013).

Sıcak stresinin süt inekleri üzerindeki etkisine odaklanan birçok çalışma olmasına rağmen, buzağılar üzerindeki bu etki geniş çapta incelenmemiştir (Roland, Drillich, Klein-Jöbstl, & Iwersen, 2016). Buzağılar özellikle dış çevreye karşı oldukça hassastırlar. Büyüyen buzağılarda, vücut ısısını düzenleme mekanizmaları tam olarak gelişmemiştir, bu da ortam koşullarındaki değişikliklere karşı daha fazla duyarlı olmalarına neden olmaktadır (Bateman, Hill, Aldrich, Schlotterbeck, & Firkins, 2012; NRC, 2001). Buzağılarda yazın artan çevre sıcaklığıyla beraber hayvanın antioksidan sistemi tehlikeye girmekte ve bu durum oksidatif stresin oluşmasına yol açmaktadır. Buna bağlı buzağılarda sıcak stresine fizyolojik yanıt olarak solunum sayısı, terleme, kalp atım sayısı ve rektal sıcaklıkta artış gözlenmektedir. Ayrıca kuru madde tüketimi, büyüme performansı ve canlı ağırlık artışı düşmektedir (Kargar, Mousavi, Karimi-Dehkordi, & Ghaffari, 2018; Tao, & Dahl, 2013; West, 2003). Oksidatif strese maruz kalan hayvanların antioksidan enzim seviyelerinde azalmalar meydana gelirken, lipit peroksidasyonunda artış şekillenmekte, bağırsak hücresi fonksiyonu ve yapısı bozulabilmektedir (Chauhan, Celi, Leury, Clarke, & Dunshea, 2014a; Maibam, Hooda, Sharma, Upadhyay, & Mohanty, 2018; Rathwa ve ark., 2017). Sonuç olarak gram-negatif bakterilerin hücre duvarı içeriği olan lipopolisakkaritler kan dolaşımına geçip, inflamasyon durumuyla karakterize bu durum sepsise neden olup bağışıklığın düşmesine yol açabilmektedir (Lambert, 2009). Yapılan çalışmalarda hayvanların inflamasyon tepkisini değerlendirmek için kullanılan akut faz proteini olan plazma haptoglobin seviyesi ile yüksek çevre sıcaklıkları sırasında süt ineklerinde arttığı gözlenmiştir (Alberghina ve ark., 2013).

Sıcak stresinin, hormonal sekresyonları ve kan biyokimyasal parametreleri etkilediği bildirilmiştir. Kortizol, sıcak stresinin hassas bir göstergesi olup, sıcak stresi koşullarında ruminantlarda yapılan çalışmalarda plazma kortizol seviyesinin yüksek olduğu gözlenmiştir (Wojtas, Cwynar, & Kolacz, 2014). Artan ısı şoku proteinlerinin (HSPs), sıcak stresinde adaptasyonu sağlayan insülin hormonunun aktivasyonunu arttırabilmektedir. İnsülinin antilipolitik etkisinden dolayı serum beta

hidroksi bütirik asit (BHBA) ve non-esterefiye yağ asitlerinde (NEFA) azalma meydana gelmektedir (Baumgard, & Rhoads, 2007).

Son yıllarda ülkemizin de içinde olduğu iklim kuşağında artan küresel sıcaklıklardan dolayı, sığırların hem verim özellikleri hem de fonksiyonel özellikleri sıcak stresinden artan oranda ve olumsuz yönde etkilendiği görülmektedir. Beslenmenin sıcak stresi üzerinde güçlü bir etkisi olduğu bilinmektedir. Bu koşullarda yetersiz antioksidan alımı, yüksek oranda pro-oksidan alımı veya her ikisi de oksidatif strese neden olabilir (Voljc, Frankic, Levart, Nemec, & Salobir, 2011). Bu bağlamda, antioksidan aktiviteye sahip uygun bitkisel katkı maddelerinin kullanılması, buzağılarda oksidatif stresin etkilerini azaltıp, üstesinden gelmelerine yardımcı olabilir. Üzüm çekirdeği ekstraktı (ÜÇE) içerdiği zengin polifenollerden (flavonoid ve fenolik asitler) dolayı, güçlü doğal bir antioksidan ve metal şelatörleri, gibi hareket ederek, oksidatif stres sonucu oluşan serbest radikalleri temizlediği bilinmektedir (Dorri, Tabeidian, Toghiani, Jaha-nian, & Behnamnejad, 2012). Üzüm çekirdeği polifenollerinin antioksidan potansiyeli, E vitaminden 20 kat, C vitaminden 50 kat daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Carpenter, O'Grady, O'Callaghan, O'Brien, & Kerry, 2007). Üzüm çekirdeği ekstraktının sıcak stresi ve diğer patolojik nedenlerden kaynaklanan oksidatif stresin etkilerini azalttığı son yıllarda farklı hayvan türlerinde gerçekleştirilen sınırlı sayıdaki in vivo araştırmalar ile gösterilmiştir (Brenes ve ark., 2010; El-Damrawy, 2014; Hassan, Mahrose, & Basyony, 2016; Kappagoda, Burton-Freeman, & Edirisinghe, 2015; Katiyar, 2015; Wang ve ark., 2008). Üzüm çekirdeği ekstraktının antioksidan özelliğinin yanı sıra, nötrofil infiltrasyonunu inhibe ettiği ve inflamatuvar mediatörlerin salımını düzenlediği belirtilmiştir (Sehirli ve ark., 2008). Aynı zamanda üzüm çekirdeği ekstraktının, antiinflamatuvar aktivite ve azaltılmış apoptotik hücre ölümü dahil olmak üzere geniş bir farmakolojik ve terapötik etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Li, Zhang, Wu, & Tian, 2001; Sato, Bagchi, Tosaki, & Das, 2001). Yapılan sınırlı sayıdaki in vivo çalışmalarda süt emme dönemindeki buzağılarda sıcak stresine karşı üzüm çekirdeği ekstraktı kullanılmış bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Bu araştırmada, sıcak stresi altında süt emme dönemindeki Holstein ırkı buzağılarda üzüm çekirdeği ekstraktını oral yolla ve farklı dozlarda kullanarak, buzağılarda sıcak stresi etkilerini azaltıp büyüme performansını ve yaşama güçlerini arttırarak ileriki yaşamlarında daha verimli hale getirmek amaçlanmıştır. zm ekirdeği ekstraktının sıcak stresi altındaki süt emen Holstein ırkı buzağılarda oksidatif stres ve inflamasyon yanıt üzerine etkisinin araştırıldığı ilk çalışma olma özelliği taşımaktadır. Bu konuda ülkemizde yaygın olarak bulunan üzüm yan ürünü olan üzüm çekirdeğinden elde edilen ekstraktın, yem katkı maddesi olarak kullanılabilirliği ve etkili dozu değerlendirilecektir. Ayrıca dünya üzerinde buzağıların sıcak stresinden etkilenme düzeyi ile ilgili bilgiler halen çok sınırlıdır, bu çalışmada buzağıların sıcak stresi eşiğinin tespiti değerlendirilecektir.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1. Buzağı Besleme

#### 2.1.1. Buzağuların Süt veya Süt İkame Yemiyle Beslenmesi

Ekonomik argümanlar ve deneysel kanıtlar, ömrün ve üretimin artması için ilk 2 ay boyunca hızlı büyüme oranlarını (> 900 gram/gün) sürdürebilmek amacıyla buzağuların daha fazla süt veya süt ikame yemi ile beslenmesi gerektiğini göstermektedir. Yaşamın erken dönemlerinde hastalıklardan korunmak için, doğumdan hemen sonra yeni doğan buzağının yeterli miktarda antikor ve besin almasının sağlanması gerekmektedir. Kolostrumda en çok vurgu bağışıklık üzerine yapılmıştır, fakat kolostrumun fazla miktarda besin maddesi (esas olarak protein ve yağ) sağladığı sıklıkla göz ardı edilmektedir. Buzağular doğduklarında sadece 2 veya 3 gün kolostrum tüketirler ve daha sonra besin maddesi tedarikinde önemli bir azalma ile tam yağlı süte veya süt ikame yemi ile beslenmeye başlarlar. Aradaki bu farkı kısmen telafi etmek için, bazı üreticiler süt ikame yemlerinin kuru maddesini, sütün kuru maddesi olan % 12,52 yerine % 15'e çıkarmaktadırlar. Bununla birlikte, süt ikame yemlerinde sunulan besin maddelerinin nispi oranı, tam yağlı sütte bulunandan büyük ölçüde farklı olup, süt ikame yemlerinde besin maddelerinin olması gereken değerleri hakkında bazı tartışmalar mevcuttur. İyi bir süt ikame yeminin, % 18'den fazla ham yağ (tercihen % 22) ve % 25'ten fazla ham protein (tercihen % 27) içermesi gerekmektedir (Bach, Terré, & Pinto, 2013b).

Buzağular için "ideal" bir yemleme programı, 6 L/gün % 15 kuru maddeli süt ikame yemi (900 g/gün kuru madde) ile beslemenin yanı sıra, oldukça lezzetli bir buzağı başlangıç yemi ve biraz kıyılmış yüksek lifli kaba yemden oluşabilir. Süt ikame yeminin 8 L/gün verilmesi, yaşamın erken dönemlerinde büyüme oranlarını arttırabilmektedir. Ancak bu durum buzağı başlangıç yemi tüketimini tehlikeye atabilmektedir ve buzağular günde iki kez beslenirse insülin direnci artabilmektedir (Bach, Domingo, Montoro, & Terré, 2013a; Bach ve ark., 2013b). Fakat, insülin direncinin, uzun süreli olarak zararlı etkilere yol açabileceğine dair endişeler son yapılan araştırmaya göre olası görünmemektedir. Çünkü yaşamın ilk 2 ayında 4, 6, ve 8 L/gün süt ikame yemi ile beslenen buzağular arasında süttten kesildikten 20 gün

sonra, insülin duyarlılığı açısından hiçbir farklılık olmadığı gözlenmiştir (Yunta, Terré, & Bach, 2015).

### **2.1.2. Katı Yemlerle Besleme**

Bazı çalışmalarda, yaşamın erken dönemindeki yoğun beslemenin gelecekteki süt üretimi üzerindeki olumlu etkilerine ulaşma yolunun, ancak buzağılara verilen süt ve süt ikame yemi miktarının artmasıyla sağlanabileceği öne sürülmüştür (Soberon, Raffrenato, Everett, & Van Amburgh, 2012). Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda sıvı veya katı yemle beslemeden sağlanan besinlerin, laktasyon süt verimi üzerine olan pozitif etkinin eşit derecede etkili olduğu gözlenmiştir (Bach, 2012; Gelsinger, Heinrichs, & Jones, 2016). Bu nedenle, katı yem tüketimini teşvik etmek, herhangi bir yetiştirme programı için çok önemli bir hedef olmalıdır. Çünkü katı yem tüketimi, besin maddesi tedarikini ve büyümeyi sağlayıp, gelecekteki süt veriminin artmasına katkıda bulunmaktadır. Ayrıca rumen gelişimini arttırarak, buzağuların süttten kesilme sürecini kolaylaştırmaktadır (Bach ve ark., 2013b). Yüksek miktarda süt veya süt ikame yemi ile beslenen buzağular, katı yemlere geçiş sırasında şiddetli strese maruz kalmaktadırlar. Süttten kesilmeden önce kazanılan büyüme avantajının bir kısmı, besin tüketimi ve sindirilebilirliğin azalması nedeniyle kaybedilebilmektedir. Erken dönemde katı yem tüketimi, rumenin mikrobiyal gelişimini teşvik ederek rumen metabolik aktivitesini arttırmaktadır (Anderson ve ark., 1987). Bu nedenle, buzağılarda yüksek miktarda süt veya süt ikame yemi ile gerçekleştirilen besleme programı, katı yem tüketiminin başlamasını geciktirebilir ve sonuç olarak, rumen gelişimini geciktirerek buzağuların süttten kesilmesini ve hızlı büyüme oranlarının korunmasını zorlaştırabilmektedir.

Buzağı başlangıç yemi tüketimini arttırmak ve yaşamın erken dönemlerinde daha fazla günlük canlı ağırlık artışını (GCAA) sağlamak için çeşitli stratejiler vardır. Bunlardan bir tanesi başlangıç yemi formülasyonuna "lezzetli" bileşenleri dahil etmektir. Yapılan bir çalışmada çeşitli enerji ve protein bileşenlerinin lezzeti değerlendirilmiş olup, mısır glüten yemi ve mısır glüteninden kaçınılması gerektiği ve lezzeti artırmak için buğday, sorgum, mısır, soya küspesine öncelik verilmesi gerektiği belirtilmiştir (Miller-Cushon, Montoro, Ipharraguerre, & Bach, 2014). Genellikle buzağı başlangıç yemlerine dahil edilen yulafın tadı kötüdür ve bu

nedenle başlangıç yemi formülasyonuna dahil edilmekten kaçınılması gerekmektedir. Besin maddeleri açısından, iyi bir buzağı başlangıç yemi; % 20 HP ve 3.2 Mcal/kg metabolize olabilir enerji (ME) içermelidir. Fakat % 22 veya daha fazla ham protein içeren buzağı başlangıç yemleri, yeterli metabolize olabilir protein sağlaması açısından, yoğun sütle besleme programlarında buzağuları büyütürken ve süttten kesildikten hemen sonra faydalara sahiptir (Miller-Cushon ve ark., 2014). Yapılan çalışmada günlük 900 gram % 28,5 HP ve % 15 yağ içeriğine sahip süt ikame yemi ile beslenen buzağılarda, %25,5 HP içeriğine sahip buzağı başlangıç yemi kullanımının, %20 HP içeriğine sahip buzağı başlangıç yemi kullanımına göre süttten kesim zamanında kuru madde tüketimini 300 gram arttırdığı gösterilmiştir (Stamey, Janovick, Kertz, & Drackley, 2012). Bununla birlikte, buzağılara sınırlı miktarda süt verildiği takdirde, başlangıç yemi kuru madde bazında % 22'den fazla ham protein içerse bile bunun büyüme performansı üzerine bir avantaj sağlamadığı görülmüştür (Akayezu, Linn, Otterby, Hansen, & Johnson, 1994). Asidozu önlemek için nişasta miktarı sınırlanabilir, fakat sadece rumen gelişimi için değil (fermantasyon sonucu oluşan UYA papilla büyümesini uyarır), büyümeyi sürdürebilecek enerjiyi karşılamak için de buzağılar nişastaya ihtiyaç duymaktadır. Bu nedenle, başlangıç yemlerindeki nişasta miktarı düşük olmamalıdır. Buzağı başlangıç yemlerindeki nişasta miktarı genel olarak % 30-35 arasında olmalıdır (Bach, Khan, & Miller-Cushon, 2017).

Çeşitli çalışmalarda, geleneksel olarak tavsiye edilenin aksine, buzağılarda yem tüketimini teşvik etmek için kaliteli kıyılmış saman veya kuru otlara ad libitum erişim sağlamanın etkili bir yöntem olduğu gösterilmiştir (Castells, Bach, Araujo, Montoro, & Terré, 2012; Castells, Bach, Aris, & Terré, 2013; Montoro, Miller-Cushon, DeVries, & Bach, 2013; Khan, Weary, & von Keyerslingk, 2011). Buzağılar yüksek miktarda buzağı başlangıç yemi veya kaba yemle karıştırılmış başlangıç yemi ile beslense bile rumendeki papillaları tıraşlama aktivitesi bazen yetersiz kalabilmektedir. Bu durumu ortadan kaldırmak için, buzağı başlangıç yemiyle beraber yüksek lifli (>% 60 NDF) kıyılmış kaba yemle beslemek, buzağılarda yeterli büyüme performansını sağlayacaktır. Kaba yemlerin yaklaşık 2,5 cm uzunluğunda kıyılması gerekirken, kaba yemler yüksek kalitede olmalı ve küf, mikotoksin, yabancı madde içermemelidir (Bach, 2021).

### 2.1.3. Buzağuların Sütten Kesilmesi

Başlangıçta yüksek miktarlarda süt veya süt ikame yemiyle oluşan gelişmiş besleme programlarının uygulamaya konulmasıyla beraber, buzağular besin ihtiyaçlarını karşılamak için başlangıç yemi tüketimine daha az ihtiyaç duymaktadırlar. Sütten kesmeden önceki hafta katı yem tüketimi genellikle toplam kuru madde tüketiminin (KMT) yaklaşık % 60'ını temsil etmektedir. Bazı buzağı besleme programlarında buzağular günlük 500 gram civarında katı yem tüketimiyle sütten kesilmektedirler (Terré, Devant, & Bach, 2007). Bu da buzağuların yeterli GCAA'nı geçişin ilk haftalarında olumsuz etkilemektedir. Büyüme performansındaki bu düşüş; laktasyonda süt veriminde düşmesine, hastalıklara karşı riskin artmasına (özellikle solunum sistemi hastalığı (BRD)) ve ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Sütten kesme zamanında buzağuların tükettiği katı yem miktarı ile ilk laktasyondaki süt verimi arasında pozitif korelasyon olduğu ortaya konulmuştur (Heinrichs, & Heinrichs, 2011). Yemden yararlanma ve büyüme potansiyelinin yüksek olması ve ayrıca yem maliyetinin düşük olması göz önüne alındığında, canlı ağırlık artışını teşvik etmek açısından en karlı dönem geçiş dönemidir. Amaç, sütten kesmeyi takip eden hafta buzağulara 1,0 kg'ın üzerinde GCAA kazandırmaktır ve bu nedenle buzağular günlük en az 1,8-2,0 kg buzağı başlangıç yemi tüketene kadar sütten kesilmemelidir (Bach, 2021).

Buzağuların sütten kesilmesinin önemli bir yönü de sosyalleşme davranışıdır. Süt çiftliklerinin çoğunda buzağular yaşamın ilk haftalarında ayrı kulübelerde barındırılmaktadır. Buzağuları tek tek barındırmanın temel amacı, hastalıkların yayılmasını en aza indirmek ve buzağı başlangıç yemi tüketiminin kontrolünü sağlamaktır. Fakat son yapılan çalışmalarda, buzağuların bireysel kulübeler yerine gruplar halinde sütten kesilmesinin daha yararlı olduğu gözlenmektedir. Buzağularda yapılan bir çalışmada sütten kesilmeden önce 49. günde buzağular süt ikame yemiyle iki öğünden tek öğüne düşürülerek beslenmişlerdir. Buzağuların yarısı 8'erli gruplar halinde toplu padoğa, diğer yarısı bireysel kulübelere alınarak 56. günde sütten kesilmişlerdir. Çalışma sonucunda toplu padoğa alınan buzağuların, bireysel kulübede beslenenlere göre daha fazla GCAA kazandığı ve daha az solunum sistemi hastalığına yakalandığı belirlenmiştir (Bach, Ahedo, & Ferrer, 2010). Başka bir



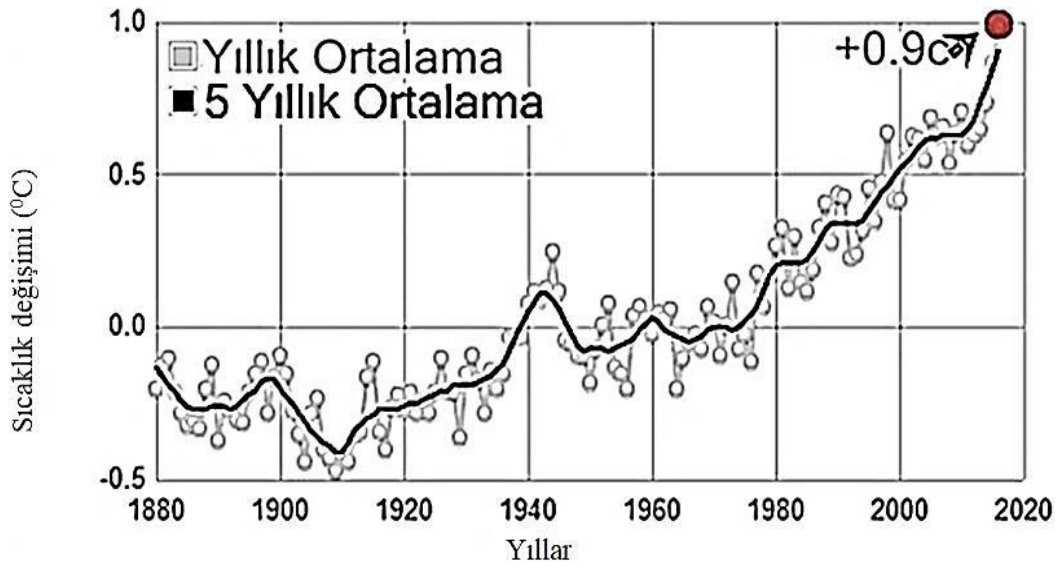
çalışmada ise 1 haftalıkken gruplanan buzağuların katı yem tüketimi ve canlı ağırlık artışları, 6 haftalıkken gruplanan buzağulara kıyasla daha fazla olduğu görülmüştür (Costa, Meagher, von Keyserlingk, & Weary, 2015). Diğer çalışmalarda da yüksek miktarlarda sütle besleme programı yapılan buzağularda, 3 hafta önce sosyal temas sağlanmasının benzer sonuçlar gösterdiği bildirilmektedir (Jensen, Duve, & Weary, 2015; Overvest, Crossley, Miller-Cushon, & DeVries, 2018).

## **2.2. Sıcak Stresi**

### **2.2.1. İklim Değişimi**

Bir bölgenin sıcaklık, radyasyon, rüzgar ve yağış özellikleri gibi alışlagelmiş hava koşullarının uzun vadeli dengesizliği olarak tanımlanan iklim değişikliği, muhtemelen içinde bulunduğumuz yüzyılda insanlığın karşılaştığı temel zorluklarından biridir. İklim değişikliği, başta tropikal ve ılıman ülkeler olmak üzere dünya genelinde çeşitli türlerin, ekosistemlerin hayatta kalması ve hayvancılık üretim sistemlerinin sürdürülebilirliği için en büyük tehditlerden biridir. Dünyanın iklimi son yüzyılda ( $0,74 \pm 0,18^{\circ}\text{C}$ ) ısınmıştır, 1990'lar ve 2000'ler kayıtlara göre en sıcak dönem olmuştur (IPCC, 2007). Ayrıca, dünya ikliminin insanlık tarihinde görülmemiş oranlarda sürekli olarak değişeceği tahmin edilmektedir. Mevcut iklim modelleri, sıcaklığın her on yılda  $0,2^{\circ}\text{C}$ 'lik bir artış gösterdiğini ve ortalama küresel yüzey sıcaklığındaki artışın 2100 yılına kadar  $1,8^{\circ}\text{C}$  ila  $4,0^{\circ}\text{C}$  arasında olacağı öngörülmektedir (IPCC, 2007).

Küresel ısınma dünya çapında sadece insan sağlığı için değil, aynı zamanda hayvancılık için de büyük bir tehdittir. Hayvanlar iklimsel stres faktörlerine adapte olabilseler de, hayatta kalmayı sağlayan tepki mekanizmaları performanslarını düşürmektedir (Pragna ve ark., 2018). Hayvanların sıcak stresine karşı savunmasızlığı, türe, genetik potansiyele, yaşam aşamasına, yönetim veya üretim sistemine ve beslenme durumuna göre değişmektedir (Das ve ark., 2016).



Şekil 1. Küresel ölçekte yıllık sıcaklıkların değişimi (NASA/GISS)

### 2.2.2. Sıcak Stresinin Tespiti

Sütten kesim öncesi buzağular, fonksiyonel olarak geniş getirmeyen ve süt vermeyen bir hayvan olarak daha büyük yüzey/kütle oranı ve daha küçük ısı yükleri nedeniyle genellikle sıcak stresi etkilerinin azaltılması için göz ardı edilmiştir (Dado-Senn, Dahl, & Laporta, 2019). Fakat yaşamın erken döneminin, gelecekteki verim üzerine uzun vadeli sonuçları olduğundan, doğumdan önce ve sonra buzağular üzerindeki sıcak stresi sonuçlarının daha fazla araştırılması gerekmektedir (Geiger, Parsons, James, & Akers, 2016). Hayvanlar, termonötral bölge olarak bilinen belirli bir çevre sıcaklığı aralığında vücut sıcaklığını koruyabilmektedir ve bu termonötral bölgede fizyolojik faaliyetleri en olumlu şekilde işlemektedir. (Kadzere, Murphy, Silanikove, & Maltz, 2002). Sıcaklığın vücuttan atılması için sığırlarda radyasyon, konveksiyon, kondüksiyon ve evaporasyon olmak üzere dört temel mekanizma devreye girmektedir. Radyasyon ancak çevredeki sıcaklığın vücut sıcaklığından düşük olduğu zaman genelde gece saatlerinde gerçekleşmektedir. Radyasyonda ısı, vücuttan çevreye doğru atılmaktadır. Kondüksiyonla ısı kaybının olması için vücudun daha soğuk bir bölgeye temas etmesi gerekmektedir. Konveksiyon deri yüzeyindeki sıcak havanın soğuk havayla yer değiştirmesiyle gerçekleşmektedir. Evaporasyon yoluyla ısı kaybı ise soluma ve terleme şeklinde olmaktadır (Kadzere ve ark., 2002). Radyasyon, konveksiyon ve kondüksiyon vücuttan ısı kaybının sadece %15'ini sağlarken evaporasyon yoluyla ısının %85'i atılabilmektedir (Dikmen

ve ark., 2008). Buzağular için termonötral bölgesinin üst sınırı, yaklaşık 26°C olup, fizyolojik vücut sıcaklığı 38.1 ile 39.2°C arasındadır (Davis, & Drackley, 1998; Piccione, Caola, & Refinetti, 2003). Sıcak stresi ise fizyolojik sıcaklığın artmasına sebep olan etkenlerin bileşkesi olarak tanımlanmaktadır (Smith ve ark., 2013). Çevresel sıcaklık, üst kritik sıcaklık olarak adlandırılan bu noktanın üzerine çıktığında, hayvanın vücudundaki ısıyı dağıtmak için enerji harcaması gerekir. Sıcak stresi düzeyini termometre sıcaklığı (°C), nem oranı (%), rüzgar hızı ve güneş ışınları (solar radyasyon) belirlemektedir (Dikmen, & Hansen, 2009).

### 2.2.2.1. Sıcaklık-Nem İndeksi (SNİ)

Sığırlarda sıcak stresi seviyesinin belirlenmesinde en fazla kullanılan indeks 1950'lerden beri kullanılan "Sıcaklık-Nem İndeksidir" (Thom, 1959). Sıcaklık nem indeksi, çevre sıcaklığı (°C) ve ortamdaki bağıl nem (%) göz önüne alınarak hesaplanmaktadır (Kendall ve ark., 2008; Vickers ve ark., 2010). Günümüze kadar toplam 9 adet SNİ indeksi aşağıdaki gibi hesaplanmıştır:

$$\text{THI 1} = 0.4 \times (T_{\text{db}} + T_{\text{wb}}) \times 1.8 + 32 + 15 \text{ (Thom, 1959)}$$

$$\text{THI 2} = (T_{\text{db}} \times 0.15 + T_{\text{wb}} \times 0.85) \times 1.8 + 32 \text{ (Bianca, 1962)}$$

$$\text{THI 3} = (T_{\text{db}} \times 0.35 + T_{\text{wb}} \times 0.65) \times 1.8 + 32 \text{ (Bianca, 1962)}$$

$$\text{THI 4} = 0.72 \times (T_{\text{db}} + T_{\text{wb}}) + 40.6 \text{ (NRC, 1971)}$$

$$\text{THI 5} = (1.8 \times T_{\text{db}} + 32) - [(0.55 - 0.0055 \times \text{RH}) \times (1.8 + T_{\text{db}} - 26.0)] \text{ (NRC, 1971)}$$

$$\text{THI 6} = (0.55 \times T_{\text{db}} + 0.2 \times T_{\text{dp}}) \times 1.8 + 32 + 17.5 \text{ (NRC, 1971)}$$

$$\text{THI 7} = T_{\text{db}} + (0.36 \times T_{\text{dp}}) + 41.2 \text{ (Yousef, 1985)}$$

$$\text{THI 8} = (0.8 \times T_{\text{db}}) + (\text{RH} \div 100) \times (T_{\text{db}} - 14.4) + 46.4 \text{ (Mader, Davis, \& Brown-Brandl, 2006)}$$

$$\text{THI 9} = 3.43 + 1.058 \times T_{\text{db}} - 0.293 \times \text{RH} + 0.0164 \times T_{\text{db}} \times \text{RH} + 35.7 \text{ (Berman, Talia Horovitz, Kaim, \& Gacitua, 2016)}$$

( $T_{db}$  = kuru termometre sıcaklığı (°C), RH= nem oranı,  $T_{wb}$  = ıslak termometre sıcaklığı (°C),  $T_{dp}$  = çığ noktası (°C))

SNİ, iklimsel değişiklikler nedeniyle hayvanlara yönelik olası tehdit veya tehlikeyi değerlendirmek için bir tahmin sistemi olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, bazı çalışmalar, SNİ'nin sadece üretim üzerindeki sıcak stresi etkilerinin kaba bir ölçüsü olarak hizmet ettiğini göstermektedir; fakat rüzgar hızı ve solar radyasyon gibi diğer faktörler için gerekli düzenlemeler yapılması gerekmektedir (Polsky, & von Keyserlingk, 2017). Laktasyondaki sığırlarda SNİ değeri ortalama günlük 68 olduğunda sıcak stresi etkilerinin başladığı görülmektedir (Collier, Hall, Rungruang, & Zimbleman, 2012).

Sıcaklık		% Bağıl nem																		
°F	°C	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90
72	22.0	64	65	65	65	66	66	67	67	67	68	68	69	69	69	70	70	70	71	71
73	23.0	65	65	66	66	66	67	67	68	68	68	69	69	70	70	71	71	71	72	72
74	23.5	65	66	66	67	67	67	68	68	69	69	70	70	70	71	71	72	72	73	73
75	24.0	66	66	67	67	68	68	68	69	69	70	70	71	71	72	72	73	73	74	74
76	24.5	66	67	67	68	68	69	69	70	70	71	71	72	72	73	73	74	74	75	75
77	25.0	67	67	68	68	69	69	70	70	71	71	72	72	73	73	74	74	75	75	76
78	25.5	67	68	68	69	69	70	70	71	71	72	73	73	74	74	75	75	76	76	77
79	26.0	67	68	69	69	70	70	71	71	72	73	73	74	74	75	76	76	77	77	78
80	26.5	68	69	69	70	70	71	72	72	73	73	74	75	75	76	76	77	78	78	79
81	27.0	68	69	70	70	71	72	72	73	73	74	75	75	76	77	77	78	78	79	80
82	28.0	69	69	70	71	71	72	73	73	74	75	75	76	77	77	78	79	79	80	81
83	28.5	69	70	71	71	72	73	73	74	75	75	76	77	78	78	79	80	80	81	82
84	29.0	70	70	71	72	73	73	74	75	75	76	77	78	78	79	80	80	81	82	83
85	29.5	70	71	72	72	73	74	75	75	76	77	78	78	79	80	81	81	82	83	84
86	30.0	71	71	72	73	74	74	75	76	77	78	78	79	80	81	81	82	83	84	84
87	30.5	71	72	73	73	74	75	76	77	77	78	79	80	81	81	82	83	84	85	85
88	31.0	72	72	73	74	75	76	76	77	78	79	80	81	81	82	83	84	85	86	86
89	31.5	72	73	74	75	75	76	77	78	79	80	80	81	82	83	84	85	86	86	87
90	32.0	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	86	87	88	88
91	33.0	73	74	75	76	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	86	87	88	89
92	33.5	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	85	86	87	88	89	90
93	34.0	74	75	76	77	78	79	80	80	81	82	83	85	85	86	87	88	89	90	91
94	34.5	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	86	86	87	88	89	90	91	92
95	35.0	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93
96	35.5	75	76	77	78	79	80	81	82	83	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94
97	36.0	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	91	92	93	94	95
98	36.5	76	77	78	80	80	82	83	83	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95
99	37.0	76	78	79	80	81	82	83	84	85	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96
100	38.0	77	78	79	81	82	83	84	85	86	87	88	90	91	92	93	94	95	96	98
101	38.5	77	79	80	81	82	83	84	86	87	88	89	90	92	93	94	95	96	98	99
102	39.0	78	79	80	82	83	84	85	86	87	89	90	91	92	94	95	96	97	98	100
103	39.5	78	79	81	82	83	84	86	87	88	89	91	92	93	94	96	97	98	99	101
104	40.0	79	80	81	83	84	85	86	88	89	90	91	93	94	95	96	98	99	100	101
105	40.5	80	80	82	83	84	86	87	88	89	91	92	93	95	96	97	99	100	101	102
106	41.0	80	81	82	84	85	87	88	89	90	91	93	94	95	97	98	99	101	102	103
107	41.5	80	81	83	84	85	87	88	89	91	92	94	95	96	98	99	100	102	103	104

Şekil 2. Sığırlarda sıcaklık-nem indeksine göre sıcak stresi düzeyleri (Collier ve ark., 2012)

Sığırlarda sıcak stresinin sıcaklık-nem indeksine göre hafif, orta, şiddetli ve çok şiddetli düzeyleri gösterilmiştir (Şekil 2). Sıcaklık-nem indeksine göre sıcak stresi düzeyleri aşağıdaki gibi sınıflandırılmıştır.

**SNİ 68-71 arası hafif düzeyde stres;** solunum sayısı dakikada 60'ın üzerindedir, süt verimi düşmeye başlar, üreme sorunları tespit edilir, rektal sıcaklık 38,5°C'yi geçer.

**SNİ 72-79 arası orta düzeyde stres;** solunum sayısı dakikada 75'in üzerindedir, rektal sıcaklık 39°C'nin üzerindedir.

**SNİ 80-89 arası ise şiddetli stres;** solunum sayısı dakikada 85'in üzerindedir ve rektal sıcaklık 40°C'nin üzerindedir.

**SNİ 90-98 arası çok şiddetli stres;** solunum sayısı dakikada 120-140 arasındadır ve rektal sıcaklık 41°C'nin üzerindedir (Collier ve ark., 2012).

Sıcaklık-nem indeksine göre derecelendirilen sıcak stresi düzeyleri laktasyondaki süt sığırlarına göre düzenlenmiştir. Fakat buzağılar üzerinde SNİ ve sıcak stresi ile ilgili çok sınırlı bilgi olduğundan, buzağılar için SNİ eşiği bilinmemektedir. Bu konuda çeşitli bulgular söz konusudur. Bazı araştırmalarda buzağuların termoregülasyon yeteneklerinin gelişmemiş olması nedeniyle, sıcak stresi için laktasyondaki sığırlardan daha yüksek risk altında oldukları söylenmektedir (Hill, Bateman, Aldrich, & Schlotterbeck, 2011). Bu bağlamda Dado-Senn, Ouellet, Dahl, & Laporta (2020) yaptıkları araştırmada rektal sıcaklık ve solunum sayısındaki artışın sıcak stresi ile ilişkili olduğundan, SNİ 65 ila 67'ye ulaştığında buzağuları yakından izlenmesi gerektiğini belirtmişlerdir. Bunun aksine yapılan bir çalışmada fizyolojik ölçümlere göre, buzağılarda sıcak stresi etkilerinin SNİ değeri 78'in üzerine çıkınca görüldüğü ve buzağuların aşırı ısı yükünü laktasyondaki ineklerden daha iyi tolere ettiği öne sürülmüştür (Kovács, Kézér, Póti, Boros, & Nagy, 2020). Bunun sebebi olarak, buzağuların rumende kaba yem fermentasyonundan kaynaklanan ısı artışının çok düşük olduğu ve süt üretimi ile ilişkili metabolik ısının olmaması nedeniyle süt veren ineklerden farklı olduğu ifade edilmiştir. Yapılan bir başka çalışmada da davranış, solunum hızı ve rektal sıcaklıktaki değişikliklerin SNİ 72 olduğunda buzağuların belirgin şekilde etkilendiği görülmüştür (Manriquez, Valenzuela, Paudyal, Velasquez, & Pinedo, 2017). Özellikle buzağuların kronik olarak yüksek ortam sıcaklığına ve bağıl neme maruz kaldığı iklimlerde, buzağı refahını izlemek ve sıcak stresini azaltma stratejilerini uygulamak için sıcak stresinin oluşmasına sebep olan çevresel eşiklerinin belirlenmesi önemlidir.

### 2.2.3. Sıcak Stresinin Oluşturduğu Etkiler

#### 2.2.3.1. Oksidatif Stres

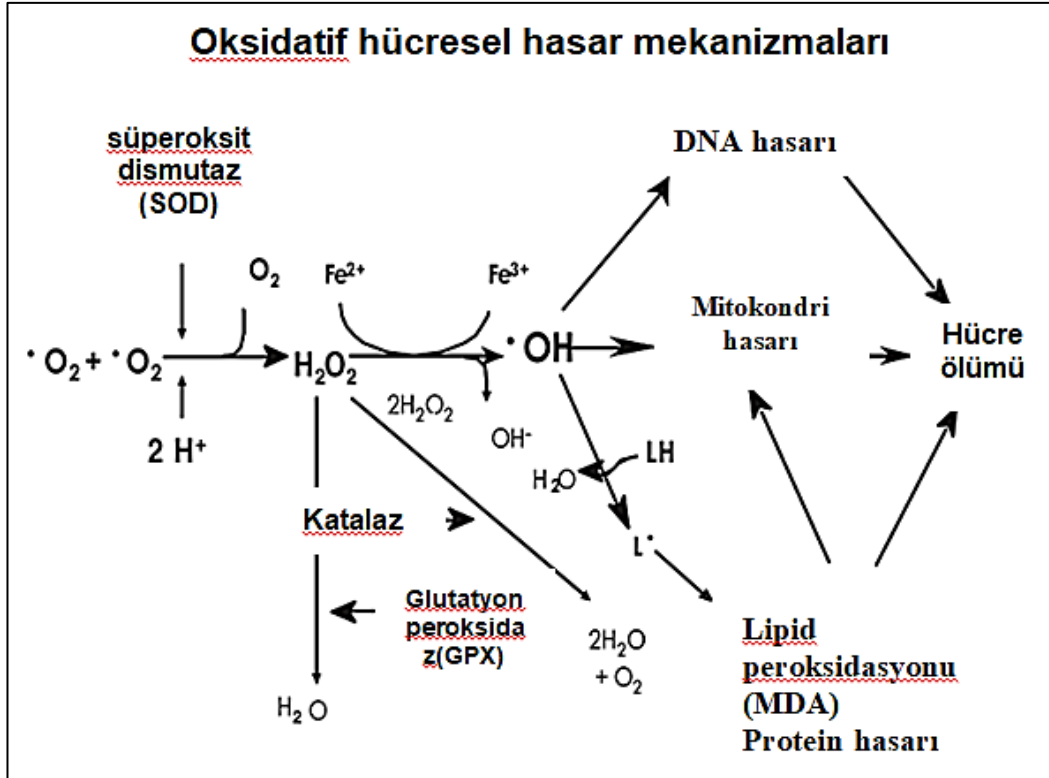
Oksidatif stres, reaktif oksijen türleri (ROT) ve reaktif nitrojen türleri (RNT) üretimi ile biyolojik sistemin reaktif ara maddeleri detoksifiye etme veya ortaya çıkan hasarı onarma yeteneği arasındaki dengesizliği temsil etmektedir. ROT ve RNT, diğer substratlarla reaksiyona girebilen radikaller ve reaktif oksijen/azot faktörlerinden oluşmaktadır. ROT ve RNT örnekleri süperoksit ( $O_2^-$ ), nitrik oksit (NO), peroksinitrit ( $NO_3^-$ ) ve hidrojen peroksittir ( $H_2O_2$ ). Normal koşullar altında bu oksidanlar canlı organizmalarda endojen antioksidan olarak bulunan süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GR), katalaz gibi ana antioksidan enzimler ve enzimatik olmayan sistemler tarafından yıkılmayıp suya indirgenmektedir (Morón, & Cortázar, 2012) (Tablo 1).

**Tablo 1:** Biyolojik sistemdeki başlıca antioksidan enzimler ve bileşikler

Antioksidan enzimler	Endojen bileşikler	Ekzojen bileşikler
Süperoksit dismutaz	Askorbik asit	Polifenoller
Glutatyon peroksidaz	Glutatyon	Karotenoidler
Glutatyon redüktaz	Alfa-tokoferol	Flavanoidler
Katalaz	Ürik asit	Kurkuminoidler Alkoloidler

Bu nedenle hücreler, etkileşimli bir antioksidan enzim ağı tarafından oksidatif strese karşı korunmaktadırlar. İlk adım olarak süperoksit dismutaz, oksijen radikallerini ( $O_2$ ) hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) katalize eder, ardından katalaz ve glutatyon peroksidaz, iki farklı yolla hidrojen peroksiti ( $H_2O_2$ ) suya ( $H_2O$ ) dönüştürür (Valko ve ark., 2007). Sıcaklık, travma, ultrason, enfeksiyonlar, radyasyonlar, toksinler vb. gibi dış faktörler, serbest radikallerin artmasına ve sonuç olarak oksidatif stresin oluşmasına sebep olmaktadır (Eltner, 1991). Yazın artan çevre sıcaklığıyla beraber aşırı miktarda ROT ve RNT üretimi antioksidan savunma enzimlerinin aktivitesini azaltarak antioksidan sistem tehlikeye girmekte ve bu ruminantlarda oksidatif strese yol açmaktadır (Celi, 2011). Sıcak stresi nedeniyle özellikle süperoksit radikallerinin üretimi, tolere edilemeyecek kadar artmaktadır.

(Ganaie, Shanker, Bumla, Ghasura, & Mir, 2013). RNT ve ROT lipitlere, proteinlere ve nükleik asitlere doğrudan saldırı yoluyla oksidatif fosforilasyonu bozarak mitokondri fonksiyonu üzerinde zararlı etkiler uygulamaktadır. Hücrelerin şiddetli oksidatif strese maruz kalması, apoptozis, nekroz ve muhtemelen sonuçta programlanmış hücre ölümüne yol açabilen diğer hücre ölüm yolu formları gibi ölümcül tepki yollarını ortaya çıkarabilir (Şekil 3).



Şekil 3. Antioksidan enzimler ve oksidatif hücrel hasar mekanizmaları (Fernandez ve ark., 2008)

### 2.2.3.1.1 Anitoksidan Enzimler ve Lipit Peroksidasyonu

Sıcak stresi koşullarında üretilen serbest radikalleri yıkımlamak için yapılan çalışmada plazma malondialdehit (MDA), SOD ve GPx aktivitelerinin arttığı bildirilmiştir (Chaudhary ve ark., 2015). Lallawmkimi (2009) yaz aylarında buzağuların, düvelerin ve laktasyondaki Murrah bufalolarının antioksidan durumu üzerindeki etkisini incelemiş ve her üç grupta da yüksek GPx ve katalaz enzim konsantrasyonları olduğunu bildirmiştir. Fakat aşırı hipertermik ortamda çok fazla serbest radikal ortaya çıkabilmektedir. Bu serbest radikaller, membran lipitlerine saldırıp lipid peroksidasyonu sonucu malondialdehit (MDA) oluşmaktadır (Guo ve

ark., 2018). MDA, çoklu doymamış yağ asitlerinin mevcudiyeti ve antioksidan savunmaya bağlı olarak değişen lipid peroksidasyonunun bir göstergesidir (Kargar, Ghorbani, Fievez, & Schingoethe, 2015). MDA'nın aşırı birikimi, antioksidan enzimlerin aktivitelerini engelleyebilmektedir. Yapılan çalışmalarda yüksek çevre sıcaklıklarının, ROT üretimi yoluyla oksidatif stresin oluşmasına ve antioksidan enzimlerin aktivitesinin azalmasına sebep olduğu gösterilmiştir (Bernabucci, Ranchi, Lacetara, & Nardone, 2002; Chauhan ve ark, 2014a). Kritik hücrel savunma enzimleri olan GPx enzimleri (glutasyon peroksidaz 1- glutasyon peroksidaz 4) ve tioredoksin redüktaz, hücrenin oksidatif bozulmaya karşı korunmasında önemli işlevlere sahiptir (Hefnawy & Tortora-Perez, 2010). Chauhan, Celi, Fahri, Leury, & Dunshea (2014c) kronik sıcak stresinin, koyunların kas dokusundaki süperoksit dismutaz 2 ve glutasyon peroksidaz 1'in mRNA gen ekspresyonlarını azalttığını belirtmişlerdir. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada ise, sıcak stresi altındaki ineklerin daha yüksek MDA seviyesine ve daha düşük plazma GPx aktivitesine sahip olduğu ortaya konulmuştur (Guo ve ark., 2018). Toplam antioksidan kapasite (TAK), serumun hem enzimatik hem de enzimatik olmayan antioksidan durumunu değerlendirmek ve stres sırasında üretilen serbest radikallere karşı antioksidan tepkiyi değerlendirmek için kullanılan bir analittir. Sıcak stresinde TAK seviyesi azalmaktadır. Bu da antioksidan savunma sisteminin azaldığını, hücrel serbest radikallerin arttığını, organellerde ve metabolik yollarda sitotoksik etkiye neden olduğunu göstermektedir (Bernabucci ve ark., 2002).

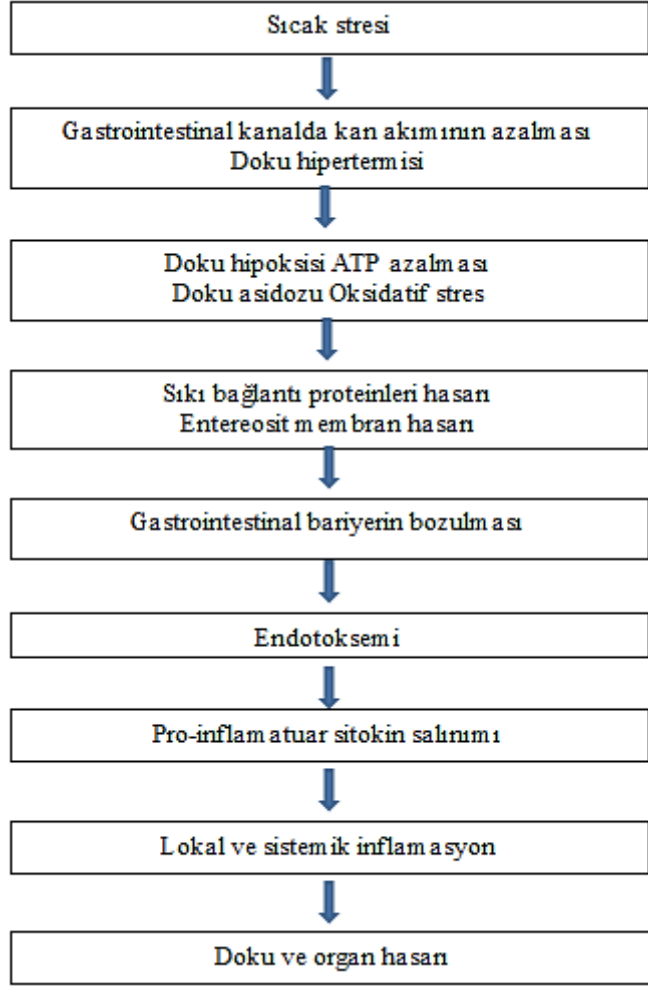
### **2.2.3.2 Sıcak Stresinin Gastrointestinal Sistemde Yarattığı Etkiler**

Psikolojik stres, uzun süreli yorucu egzersiz ve sıcaklık stresi gibi stres faktörleri bağırsak bariyerinin bütünlüğünü etkilemektedir (Lambert, 2009). Ayrıca, nonsteroid antiinflamatuar ilaçlar gibi bazı ilaçların gastrointestinal mukozaya zarar verdiği iyi bilinmektedir (Bjarnason, Williams, Smethurst, Peters, & Levi, 1986). Bağırsak bariyeri, enterosit zarları ve bağırsak epitelindeki enterositler arasındaki sıkı bağlantılardan oluşmaktadır. Ek olarak, mukus ve doku makrofajları gibi faktörler, istenmeyen etkenlerin iç ortama girmesini engelleyen bariyere katkıda bulunmaktadır. Bu tür etkenler arasında gıda antijenleri, safra, hidrolitik enzimler ve endotoksinler (lipopolisakaritler) bulunmaktadır. Bağırsak bariyeri bütünlüğünün



kaybı, bağırsak geçirgenliğinin artmasına neden olmaktadır. Bağırsak geçirgenliği, büyük moleküllerin (moleküler ağırlığı > 150 Da) bağırsak lümeninden kana aracısız difüzyonu olarak tanımlanmaktadır. Düşük düzeyde bir geçirgenlik her zaman mevcut olup, bağışıklık sistemi patojenlerin zarar vermesini önlemektedir. Bununla birlikte, artan geçirgenlik, zararlı lokal ve sistemik enflamatuvar reaksiyonlara neden olabilmektedir (Lambert, 2009).

Isı dağılımını en üst düzeye çıkarmak için sıcak stresi altındaki hayvanların kan akışı iç organlardan periferik doğru olmaktadır. Kanın akışının periferik doğru olması, iç organlardaki kan damarlarının vazokonstriksiyonuna neden olmaktadır. Vazokonstriksiyonu takiben, kan akışının olmaması, gastrointestinal bölgeyi oluşturan hücrelerin hipoksisine yol açmaktadır (Lambert, 2009). Buna karşılık, hücresel hipoksi mitokondriyal stresi indükleyerek, ATP üretimini azaltılmasına ve geçiş metallerinin ( $Ca^{2+}$ ) üretimini arttırmaya neden olmaktadır. Spesifik olarak, geçiş metallerindeki artış, mitokondride ROT ve RNT'nin üretimini uyarmaktadır. Sırasıyla NADPH oksidaz ve nitrik oksit sentaz II'nin enzimatik aktiviteleri tarafından aşırı üretilen süperoksit gibi ROT ve nitrik oksit gibi RNT, ciddi sorunlara neden olup hücrelere zarar verebilmektedir (Hall ve ark., 2001). Sonuç olarak, ROT ve RNT'nin aşırı üretimiyle, bağırsak epitelini oluşturan enterosit zarı ve sıkı bağlantı proteinlerinin bütünlüğünün bozulmasına neden olup, genel hücre hasarına yol açmaktadır (Lambert, 2009). Enterositlere ve sıkı bağlantı proteinlerine verilen hasar ile bağırsak geçirgenliği artmaktadır (Şekil 4). Geçirgenlik; birincisi, zaman içinde plazmadaki FITC-dekstran konsantrasyonu yoluyla, ikincisi, kan LPS konsantrasyonu yoluyla olmak üzere iki yolla ölçülebilmektedir (Lambert ve ark., 2002). Lipopolisakkaritler, gastrointestinal sistemde bulunan anaerobik, gram negatif bakterilerin duvarlarının bir bileşenidir (Lambert, 2001). Dolaşımdaki artan endotoksin konsantrasyonu, lipopolisakkaritlerin lümen kan dolaşımına geçtiğini gösterip, potansiyel olarak sepsis ve hayvanın ölümüne sebep olabilmektedir. Hall ve ark. (2001) farelerde yaptıkları çalışmada 41.5°C'lik vücut sıcaklığının portal lipopolisakkarit konsantrasyonunu önemli şekilde arttırdığını ve sıcak stresinin bağırsak geçirgenliğini arttırdığını belirtmişlerdir. Ayrıca, kan endotoksinindeki artış, makrofajlar, monositler ve lökositler gibi lipopolisakkaritlere yanıt veren hücrelerde bulunan toll benzeri reseptör 4'e (TLR4)



**Şekil 4.** Sıcak stresi ile gastrointestinal bariyer bozukluğunun nedenleri ve olası sonuçları (Lambert, 2004).

bağlanarak enfeksiyon bölgesinde lokal bir sitokin tepkisini tetiklemektedir. Lipopolisakkaritlere yanıt olarak bağışıklık sistemi, özellikle de interlökin-1alfa (IL-1  $\alpha$ ), IL6, IL-1 $\beta$ , interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) ve tümör nekroz faktör alfa (TNF- $\alpha$ ) gibi sitokinlerin salınımıyla cevap vermektedir (Lambert, 2009). Yapılan çalışmalarda, yüksek ortam sıcaklığının TNF- $\alpha$  gibi proenflamatuar mediatörlerin ekspresyonunu arttırdığı bildirilmiştir (Lambert, 2009; Pearce ve ark., 2013b).

Bağırsak geçirgenliğinin artması, lipopolisakkaritlerin dolaşımına sızmasına, sitokin tepkisinin uyarılmasına ve lokal inflamasyona yol açmasının yanı sıra ayrıca nitrik oksit sentaz II'nin enzimatik aktivitesini de arttırmaktadır. Nitrik oksit sentaz

II'nin aktivitesinin artması, özellikle nitrik oksit olmak üzere ROT ve RNT'nin daha fazla üretimine neden olmaktadır. Nitrik oksidin kan damarlarını gevşettiği ve bunun da iç organlardaki damarların vazodilatasyonunun öncüsü olduğu bulunmuştur. İç organlardaki kan damarlarının vazodilatasyonu, kalp şokuna, sıcak çarpmasına ve hayvanın potansiyel ölümüne yol açan hipotansiyona neden olduğu belirtilmiştir (Moncada, Palmer, & Higgs, 1991).

### **2.2.3.3. Sıcak Stresinin Fizyolojik Parametrelere Etkisi**

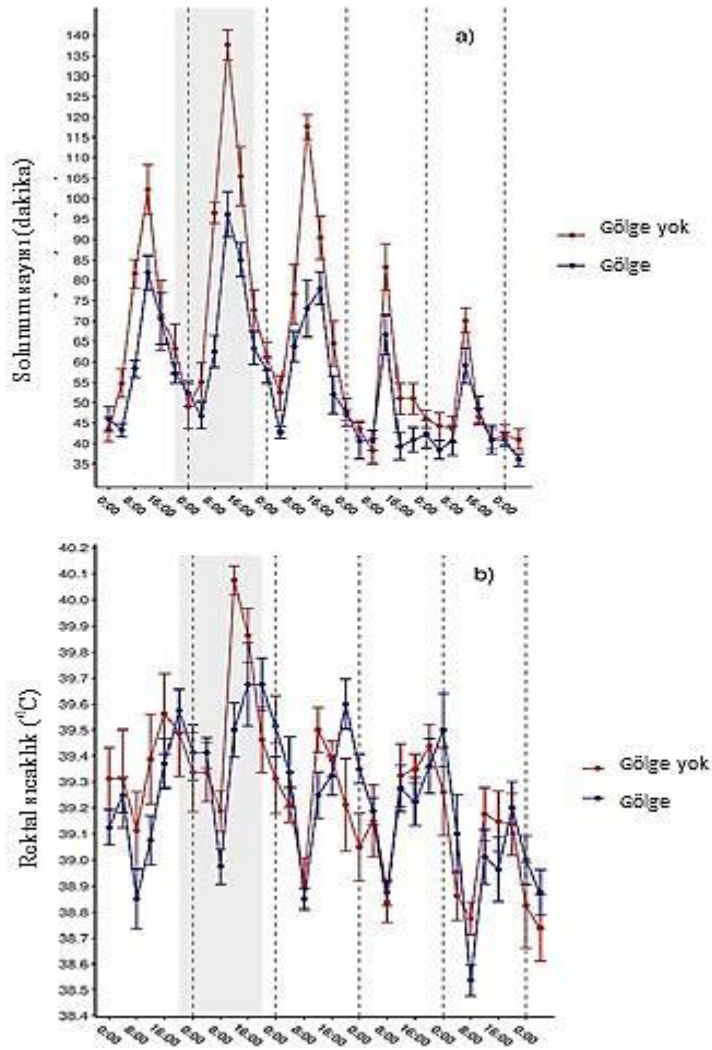
Sıcak stresine fizyolojik olarak tepki olarak ruminantlarda; solunum sayısı, rektal sıcaklık, kalp atım sayısı artmaktadır. Bu fizyolojik tepkilerdeki artışın miktarı, hayvanların maruz kaldığı sıcak stresinin derecesini yansıtmaktadır (Ganaie ve ark., 2013).

Kalp atış hızındaki artış, buzağılarda vücut sıcaklığının regülasyonu için önemli bir göstergedir. Bu tepki, sıcak stresinin neden olduğu yüksek vazodilatasyona ve artan kan akışına bir yanıt olarak, kan basıncının korunmasına yardımcı olmaktadır. Ayrıca kan akışı, vücut ısısının iç organlardan vücut yüzeyine taşınmasını sağlayarak periferik dokulara dağıtılmasını sağlamaktadır (Wang ve ark., 2020). Bu nedenle, kalp atış hızındaki değişiklik, buzağuların ısı dengesini korumak için koruyucu bir mekanizma olarak hizmet etmektedir. Yapılan çalışmada sıcak stresine maruz kalan buzağılarda kalp atış hızının arttığı açıkça gösterilmiştir (Kovács, Kézér, Ruff, Jurkovich, & Szenci, 2018b).

Solunum ve kutanöz soğutma mekanizmaları, çevreye daha fazla nemi buharlaştırarak vücuttaki ekstra ısı yükünün doğrudan dağıtılmasını sağlamaktadır (Berman, 2006). Çevreye ısı transferini kolaylaştırmak için kan akışı kutanöz dokuya doğru olmaktadır. Derideki kılcal damarlar vazodilatasyonuna uğrayarak çevreye doğru ısı aktarımı olmaktadır ve sıcak stresinde hayvanlarda deri sıcaklığının artması kan akımının buraya doğru olmasıyla açıklanabilir (Shilja ve ark. , 2016). Buzağuların normal solunum sayısı dakikada ortalama 24-36 arasındadır (Jackson, & Cockcroft, 2002). Solunum hızı, incelenen tüm fizyolojik tepkiler arasında sıcak stresine karşı en tutarlı olanıdır ve diğer etkilerden daha çok güneş radyasyonundan etkilenmektedir. Yapılan çalışmalar buzağuların sıcak ortamla başa çıkmak ve

homeotermiyi sürdürmek için ilk önce solunum sayılarını artırdığını göstermektedir (Kovacs ve ark., 2018b). Bu solunum tepkisi, sinir uyarılarını hipotalamustaki termal merkeze ileten periferik reseptörlerin doğrudan ısı ile uyarılmasından kaynaklanmaktadır. Kardiyο-respiratörük merkez daha sonra daha fazla solunum aktivitesi için diyaframa ve interkostal kaslara impulslar göndermek üzere uyarılmaktadır (Razdan, Bhoserkar, & Roy, 1968). Sıcak ortamlarda buzağuların adaptif tepkileri üzerine yapılan araştırmalar, solunum hızlarında ortalama %50'lik bir artış olduğunu göstermiştir (Kovács, Kézér, Ruff, Jurkovich, & Szenci, 2018a; Peña, Risco, Kunihiro, Thatcher, & Pinedo, 2016).

Rektal sıcaklık, hayvanlarda stresin değerlendirilmesi için ideal bir gösterge olduğu kadar, fizyolojik durumun önemli bir ölçüsü olarak kabul edilmektedir (Lefcourt, Bitman, Wood, & Stroud, 1986). Rektal sıcaklıktaki değişiklikler, derin vücut sıcaklığındaki değişiklikleri göstermektedir. Buzağularda normal vücut sıcaklığı aralığı, 38.5-39.2°C olarak kabul edilmiştir (Piccione ve ark., 2003). Yaz aylarında daha yüksek rektal sıcaklık, bu hayvanlarının normal vücut ısısını koruyamadıklarını göstermektedir. Sıcak stresi altındaki hayvanlarda gözlenen yüksek rektal sıcaklık, hayvanların fizyolojik ve fiziksel olarak yeterli ısı kaybını sağlanamadığını, homeotermik durumdaki bozulmayı göstermektedir (Joshi, & Tripathy, 1991). Sıcak stresi altındaki buzağularda yapılan çalışmada SNİ 70,01'den 87,72'ye çıkarıldığında rektal sıcaklığın 0,95°C arttığı gözlenmiştir (Kim ve ark., 2018). Kovacs ve ark., (2018b) tarafından yapılan çalışmada sıcak stresinin buzağularda fizyolojik parametreleri en belirgin etkilediğı zamanın gündüz 12:00-16:00 saatleri arası olduğu belirtilmiştir (Şekil 5).

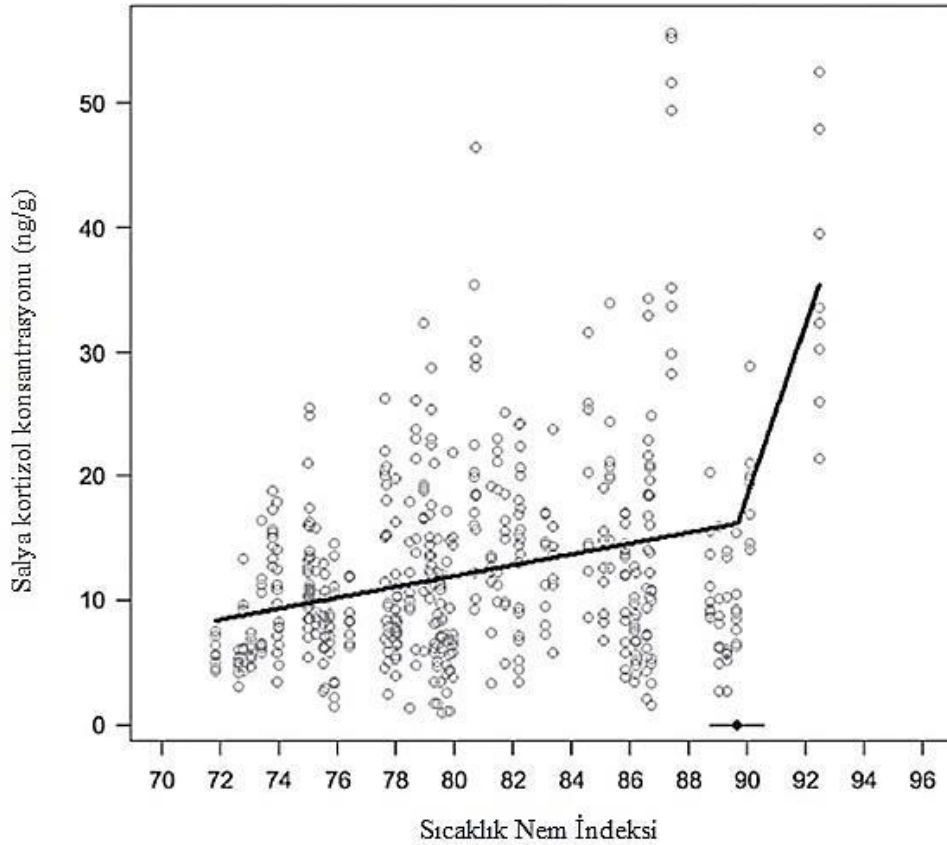


**Şekil 5.** Gölge ve gölgesiz yerlerde barındırılan buzağuların gün içinde solunum sayısı (a), rektal sıcaklıklarındaki (b) değişiklikler (Kovacs ve ark., 2018b)

#### 2.2.3.4. Sıcak Stresinin Nöro-Endokrin Sisteme Etkileri

Hayvanlarda özellikle adrenal ve tiroid bezlerinden üretilenlerin hormonların, sıcak ortamlardaki termoregülasyon ve metabolik ayarlamalarda önemli bir rolü olduğu kabul edilmektedir. Hipotalamo-hipofiz-adrenal eksen (HPA eksen), stres tepkilerinin başlıca endokrin düzenleyicilerinden biri olarak görev yapmaktadır. Hayvanlarda stres yolunu kontrol eden HPA ekseninin ürünleri kortikotropin salgılatıcı hormon, ACTH ve kortizoldür (Sejian, Bhatta, Gaughan, Dunshea, & Lacetera, 2018). Kortizol geniş getiren hayvanların birincil stres hormonudur, HPA ekseninin aktivasyonu, kortizol üretiminin artmasına ve dolaşıma salınmasına yol açabilmektedir (Binsiya ve ark., 2017). Kortizol, sıcak stresi ile mücadele eden

başlıca hormon olarak belirtilmektedir ve türler arasında sıcak stresinin şiddetini değerlendirmek için güvenilir bir biyobelirteç olarak kullanılmaktadır (Shaji, Sejian, Bagath, Manjunathareddy, & Kurien, 2016). Sıcak stresine maruz bırakılan buzağular üzerinde yapılan çalışmalarda, salya ve plazma kortizol konsantrasyonları yükselmiş ve bu da stres seviyesinin arttığını göstermiştir (López ve ark., 2018; Kovács ve ark., 2020) (Şekil 6).



**Şekil 6.** Buzağuların salya konsantrasyonunun sıcaklık nem indeksi değerinde kırılma noktası (Kovács ve ark., 2020).

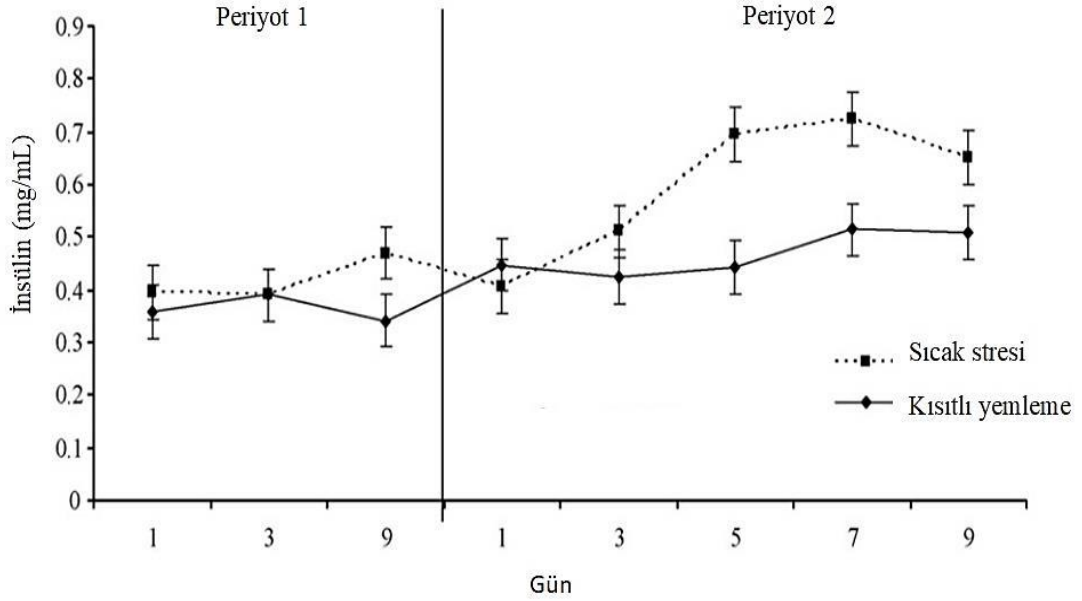
Aldosteron, adrenal bezlerin korteksinden salınan bir steroid hormondur, vücuttaki su ve mineral dengesinin düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Sıcak stresi altındaki ruminantlarda meydana gelen şiddetli dehidrasyon, renin-anjiyotensin-aldosteron sisteminin aktivasyonu yoluyla antidiüretik hormonun (ADH) salgılanmasının artmasına neden olabilmektedir (Sejian ve ark., 2018). Şiddetli dehidrasyon altındaki melez keçilerin dolaşımında ADH hormonu seviyesinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Kaliber, Koluman, & Silanikove, 2016). ADH

hormonu, böbreklerdeki su Emilimini artırarak kan ozmolaritesini düzenlemektedir. Bu da sıcak stresi altında yaşayan hayvanlarda konsantre idrarın atılmasına yardımcı olmaktadır (Kaliber ve ark., 2016). Ayrıca, sempatik-adrenal medüller sistem de öncelikle hayvanlarda katekolaminlerin salınımı yoluyla stres aktivitelerinin kontrol edilmesine büyük ölçüde katkıda bulunmaktadır.

Tiroid hormonları, termojenezi düzenlemede önemli bir rol oynamaktadır, ayrıca çiftlik hayvanlarının sıcaklık toleransını değerlendirmek için bir gösterge olarak tanımlanmaktadır. Sıcak stresinin tiroid fonksiyonu üzerine doğrudan olumsuz etkisi, triiyodotironin (T3) ve tiroksin (T4) düzeylerinde azalmaya neden olmaktadır (Todini, 2007) Muhtemelen bu sıcak stresinin hipotalamo-hipofiz ve tiroid eksenini üzerindeki doğrudan etkisine bağlı olarak bazal metabolizmayı sınırlayan tirotropin salgılatıcı hormon (TSH) üretiminin azalmasından kaynaklanmaktadır (Pragna ve ark., 2018). Buzağılarda sıcak stresinde yapılan çalışmada, metabolik hızı ve dolayısıyla metabolik ısı üretimini düşürme girişiminin göstergesi olarak T3 ve T4'ün plazma yoğunluklarının düştüğü görülmüştür (López ve ark., 2018).

Yapılan çalışmalarda sıcak stresi altındaki ineklerde, buzağılarda ve domuzlarda bazal insülin konsantrasyonlarının kademeli olarak arttığı gösterilmiştir (O'Brien, Rhoads, Sanders, Duff, & Baumgard, 2010; Pearce ve ark., 2011; Wheelock, Rhoads, VanBaale, Sanders, & Baumgard, 2010) (Şekil 7). Yoğun katabolik bir durum olan sıcak stresi sırasında güçlü bir anabolik hormon olan insülindeki artış, görünüş olarak biyolojik bir çelişkiyi ifade etmektedir. Sıcak stresinde hiperinsülineminin nedenleri net olarak anlaşılmamıştır, ancak insülinin HSP'lerin aktivasyonunda ve düzenlenmesinde anahtar rol oynadığı tahmin edilmektedir (Li, Ali, & Currie, 2006). Sıcak stresinde artan hiperinsülinemiye, yine sıcak stresinde artan endotoksinlerin (lipopolisakaritler) neden olabileceği düşünülmektedir. Yapılan çalışmada buzağılara damardan lipopolisakaritler verildiğinde, dolaşımdaki insülinde on kattan fazla artış şekillendiği görülmüştür (Rhoads ve ark., 2009). Sıcak stresi sırasında bir NEFA yanıtının olmaması, yüksek insülin için bir strateji olabilir, çünkü aşırı NEFA pankreas  $\beta$ -hücrelerinin apoptozisine neden olmaktadır (Roche ve ark., 2000). Artan insülin, sıcak stresi

adaptasyon mekanizmasının önemli bir parçası olabileceği düşünülmektedir. Örneğin, diyabetik insanların sıcağa bağlı hastalık ve ölümlere daha yatkın olduğu görülmüştür (Kovats, & Hajat, 2008). Benzer şekilde, diyabetik sıçanlar şiddetli sıcağa maruz kaldıklarında ölüm oranının arttığı ve ekzojen insülinin farelerin hayatta kalma sürelerini uzattığı belirtilmiştir (Niu, Lin, Liu, & Cheng, 2003). Sonuç olarak, insülinin sıcak stresinde kritik bir rolü olduğu görülmektedir.



**Şekil 7.** Buzağlarında sıcak stresi ve kısıtlı beslemenin bazal insülin konsantrasyonları üzerine etkileri (O'Brien ve ark., 2010).

Sıcak stresi sırasında sığırlarda laktojenik hormon olan prolaktinde artış şekillendiği görülmüştür (West, 2003). Sıcak stresinin prolaktini artırmasının kesin nedeni bilinmemekle birlikte, terleme, HSP indüksiyonu, su metabolizmasındaki değişim ve kıl dökümü ile ilgili olabileceği düşünülmektedir (Foizik, Langan, & Paus, 2009). Prolaktin, sıcak stresinin neden olduğu hiperinsülinemiye de kısmen aracılık edebilmektedir. Yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarda prolaktinin pankreatik  $\beta$ -hücre proliferasyonunu ve glukoz ile stimüle edilen insülin sekresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (Arumugam ve ark., 2010; Ben-Jonathan, Hugo, Brandebourg, & LaPensee, 2006).

Adiposit türevli hormon olan, gıda alımı ve enerji homeostazının temel düzenleyicisi olan leptinin; HPA eksen aktivitesini, sempatik sinir sistemi aktivitesini



ve proinflatuar sitokinlerin salınımı modüle ettiği gösterilmiştir. (Lappas, Permezed, & Rice, 2005; Morimoto ve ark., 2000). Ortaya çıkan kanıtlar, leptinin memelilerde oksidatif stresle ilgili temel süreçleri modüle ettiğini göstermektedir. Sıcak stresi, leptin ve adiponektin salgılanmasını arttırmaktadır. Leptin hipotalamik eksenini uyarmakta ve yem tüketiminin düşmesine neden olmaktadır (Aleena ve ark., 2016). Tavuklarda yapılan çalışmada leptininin karaciğeri ve hipotalamusta stresten sorumlu olan HSP 70'in gen ekspresyonunu azalttığı belirtilmiştir (Figueiredo ve ark., 2007).

Somatotropin (büyüme hormonu, GH) ve insülin benzeri büyüme faktörü-I (IGF-I), laktojenik hormonlardan ikisidir. Kronik sıcak stresi altındaki ineklerde yapılan çalışmada, sıcak stresinin hepatik GH reseptör ve IGF-I mRNA sayısını azalttığı ve somatotropin seviyelerinde azalma olduğu gözlenmiştir (Rhoads ve ark. 2004; Rhoads ve ark. 2010).

#### **2.2.3.5. Sıcak Stresinin Hematolojik Parametrelere Etkisi**

Sıcak stresine bağlı ilk olarak beyaz kan hücreleri (WBC), kırmızı kan hücreleri (RBC), hemoglobin (Hb), PCV konsantrasyonlarında değişimler meydana gelmektedir. Sıcak stresinde ruminantlar üzerinde yapılan çalışmalarda sıcaklığın artmasıyla birlikte kan Hb, RBC ve PCV konsantrasyonlarının arttığı görülmüştür (Abera, Yusuf Mammed, Eshetu, Pilla, & Wondifraw, 2021; Haque, Ludri, Hossain, & Ashutosh, 2013; Okoruwa, 2014). Bu artışın, hayvanların sıcak stresi koşullarında hipoksiye bağlı olarak, oksijen ihtiyacını karşılayabilmesi için şekillendiği belirtilmektedir. Fakat sıcak stresinde dehidrasyondan kaynaklanabilecek Hb, RBC ve PCV konsantrasyonunun artması yanıltıcı olabilmektedir (Chaudhary ve ark., 2015). Bu bulguyu doğru değerlendirmek için hematokrit değerine bakılması gerekmektedir.

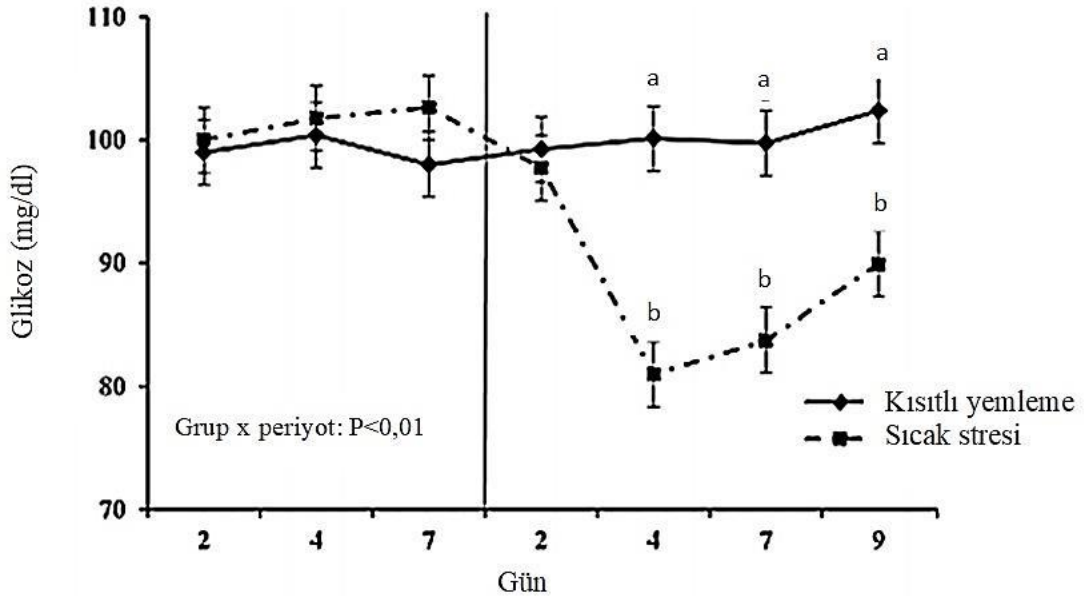
Ayrıca sıcak stresine maruz kalan sığırlarda yapılan çalışmada beyaz kan hücreleri (WBC) ve monosit sayısında artış şekillendiği görülmüştür (Bertagnon, Esper, Emanuelli, & Pellegrine, 2011; Morar ve ark., 2018). WBC sayısındaki bu artışın nedeni, sıcak stresi nedeniyle kortikosteroidlerin veya epinefrin hormonlarının salınmasına bağlı lökosit sayısının artmasından kaynaklanmaktadır (Jain, 1986).

Fakat bunun aksine sıcak stresinde yapılan bazı çalışmalarda WBC sayısının düştüğü, bunun ise vücudun stres uyarılarına tepkisinden dolayı kaynaklanıyor olabileceği ifade edilmiştir (Abera ve ark., 2021; Mirzadeh, Tabatabaei, Bojarpour, & Mamoei, 2010). Bununla birlikte, Hb ve PCV düzeylerinde azalma, ya lipid içeriği açısından zengin olan RBC membranına serbest radikallerin saldırısının artmasından ve RBC'nin nihai olarak parçalanmasından, ya da hayvan sıcak stresinde daha az yem tükettiği için Hb sentezi için yetersiz besin alımından kaynaklanabileceği bildirilmiştir (Srikandakumar, & Johnson, 2004). Fakat bu değerlerin artan su tüketimine bağlı olarakta düşebileceği unutulmamalıdır ve bu parametreler değerlendirilirken hematokrit değerine de bakılması gerekmektedir.

#### **2.2.3.6. Sıcak Stresinin Biyokimyasal Parametrelere Etkisi**

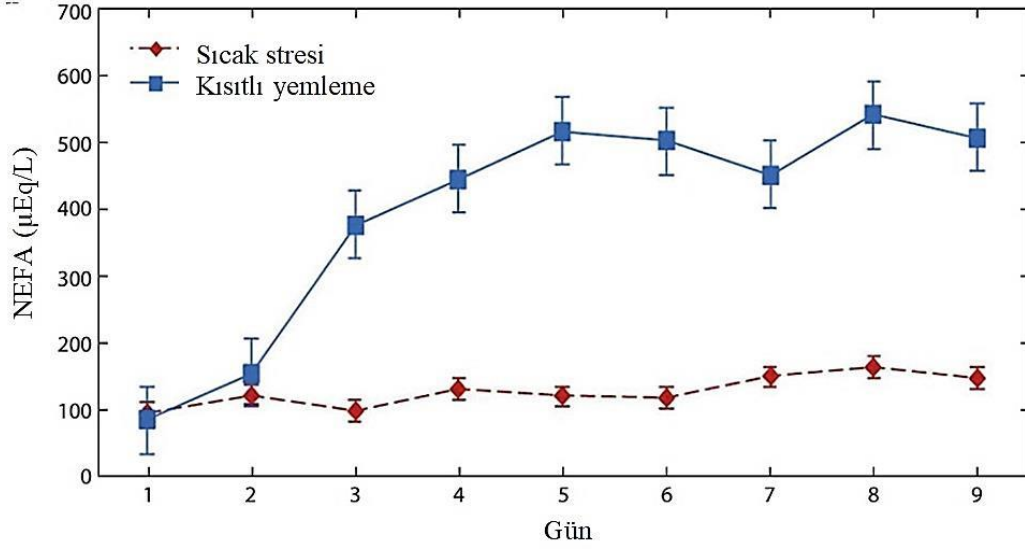
Sıcak stresindeki sığırlarda glikoz konsantrasyonunun, insülinin artmasına bağlı olarak azaldığı bildirilmiştir (Rhodas ve ark., 2009). İnsülin, hem karbonhidrat hem de lipid metabolizmasının güçlü bir düzenleyicisidir ve postabsorvatif besin parçalanmasının sıcak stresi düzenlemesine aracılık etmesinde önemli bir rol oynamaktadır. İnsülin, duyarlı dokularda (yani kas ve yağ dokusu) glikoz taşıyıcı tip 4 (GLUT 4) yoluyla glikoz alımını uyarmaktadır. Bu sebeple insülinin sıcak stresinde gözlenen hipoglisemiden sorumlu olabileceği belirtilmiştir (Şekil 8) (O'Brien ve ark., 2010; Wheelock ve ark., 2010; Yazdi ve ark., 2016).

Sıcak stresinin, hepatik glukoneojenik gen ekspresyonuna neden olduğunu bildirilmiştir. Hepatik glikoz çıkışı ile ilgili olarak, ruminantların karaciğerinin işlevsel kaldığı ve glikozun sıcak stresi sırasında süt sentezi dışındaki süreçler için tercih edildiği görülmektedir (Rhoads, La Noce, Wheelock, & Baumgard, 2011). Bu nedenle, glikozun sıcak stresi altındaki hayvanlar için tercih edilen bir yakıt haline geldiği görülmektedir (Streffer, 1988). Sıcak ortam koşullarında azalan kan glikoz konsantrasyonunun bir diğer nedeni de sıcak stresinin kuru madde tüketimini baskılamasıdır (Abeni, Calamari, & Stefanini, 2007).



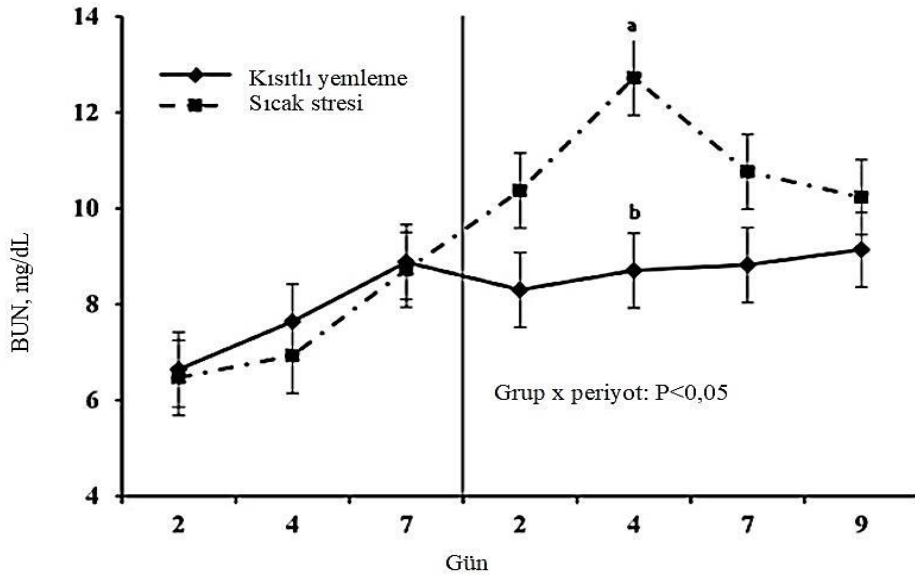
**Şekil 8.** Buzağlarda sıcak stresi ve kısıtlı beslemenin glukoz konsantrasyonları üzerine etkileri (Yazdi ve ark., 2016).

Diğer bir önemli metabolik düzenleyici ise plazma ve serumda bulunan NEFA'dır. Sıcak stresi altındaki ineklerinde NEFA konsantrasyonlarının düştüğü belirtilmiştir (Şekil 9). Bunun, daha düşük metabolik ısı üretimi ile sonuçlanacak olan glukoz kullanımını artırma girişiminden kaynaklanıyor olabileceği belirtilmiştir (Baumgard, & Rhoads, 2012; Rhoads ve ark., 2009). Fakat asıl neden insulin olduğu düşünülmektedir. İnsülin aynı zamanda güçlü bir antilipolitik hormondur ve sıcak stresi altındaki hayvanların yağ dokusu yıkımını engelleyerek NEFA miktarını azaltmaktadır. Sıcak stresi altında lipitlerin yıkımının azalması, metabolik yakıt seçeneklerini (yani NEFA ve ketonları) azaltmaktadır ve hayvan enerji kaynağı olarak glikoza olan bağımlılığını artırmaktadır (Baumgard, & Rhoads, 2012). Fakat yapılan bir başka çalışmada yaz aylarında kışa kıyasla NEFA üretiminin arttığı kaydedilmiş olup, NEFA'nın yaz aylarında enerji dengesini korumak için arttığı ifade edilmiştir (Shehab-El-Deen ve ark., 2010). Sıcak stresinde domuzlarda NEFA seviyesinin yalnızca ilk üç gün arttığı, sonraki günlerde NEFA seviyesi ile çevre sıcaklığı arasında negatif ilişki olduğu saptanmıştır (Upah, Pearce, Gabler, & Baumgard, 2011). Ayrıca sıcak stresinde total kolesterol konsantrasyonunun azaldığı belirtilmiştir (Abera ve ark., 2021; Farooq ve ark., 2017).



Şekil 9. Sığırlarda sıcak stresi ve kısıtlı beslemenin NEFA konsantrasyonları üzerine etkileri (Baumgard, & Rhoads, 2012).

Sıcak stresi ayrıca postabsorbatif protein metabolizmasını da etkilemektedir (Lu, Wen, & Zhang, 2007). Kas proteini RNA/DNA sentez kapasitesi çevresel hipertermi ile azalmaktadır (Streffer, 1982). Ayrıca, ısı stresi sırasında çeşitli türlerde iskelet kası katabolizmasının arttığı görülmektedir (Baumgard, & Rhoads, 2012). Bu bağlamda kronik şiddetli sıcak stresinde sığırlarda yapılan çalışmalarda serum kreatin konsantrasyonunun, kan üre konsantrasyonunun (BUN) arttığı belirtilmiştir (Şekil 10) (Dar ve ark., 2019; Farooq ve ark., 2017; Yazdi ve ark., 2016).



Şekil 10. Buzağılarda sıcak stresi ve kısıtlı beslemenin kan üre konsantrasyonu (BUN) üzerine etkileri (Yazdi ve ark., 2016).

Bunun sıcak stresi nedeniyle yem tüketiminin azalması ve kas katabolizmasına bağlı olarak amino asitlerin enerji için kullanılması nedeniyle olabileceği vurgulanmıştır (Yazdi ve ark., 2016). Kronik sıcak stresinde protein katabolizması artarak, glukoneogenez yoluyla glikoz üretilmektedir (Aleene ve ark., 2016). Ayrıca, hafif sıcak stresi, glukoz 6-fosfat, laktat, piruvat, asetil-koenzim A (asetil-CoA), kreatin, fosfokreatin veya ATP'nin kas içi konsantrasyonlarını etkilemeden kas içi glikojen fosforilaz ve piruvat dehidrojenazı arttırmaktadır (Aleene ve ark., 2016).

Ortam sıcaklığının yüksek olduğu dönemlerde, bazı metabolik enzimler aktivitelerini arttırmaktadırlar ve bu enzimlerin kandaki aktivite seviyeleri, çeşitli organların sıcak stresine nasıl tepki verdiği ve adapte olduğu konusunda bilgi vermektedir (Gupta, Kumar, Dangi, & Jangir, 2013). Asit fosfataz ve alkalın fosfataz, hayvanlardaki metabolik aktivitelerle ilişkili iki ana enzim olduğu belirtilmiştir. Bu enzimlerin seviyeleri, sıcak stresine maruz kalan hayvanlarda genellikle düştüğü ve sıcak stresinin karaciğer fonksiyon bozukluğuna sebep olduğu ifade edilmiştir (Gupta ve ark., 2013). Aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) enzimlerinin sıcak stresine maruz kalma sırasında arttığı görülmüştür (Gupta ve ark., 2013; Nazifi, Saeb, Rowghani, & Kaveh, 2003). Bu enzimlerin aktivitesindeki artış sayesinde, hayvanların sıcak stresiyle daha kolay baş edebilecekleri belirtilmiştir (Banerjee ve ark., 2015). Ancak, bunun aksine, keçilerde AST'nin sıcak stresi üzerinde önemli bir etkisi olmadığı belirtilmiştir (Sharma, & Kataria, 2011).

Ruminantlarda yapılan çalışmalarda sıcak stresinin, total protein ve albumin konsantrasyonlarını arttırdığı görülmüştür (Das, Lateef, Panchasara, Sanap, Nilufar, & Parsani, 2014). Yaz aylarında, hayvanların ciddi dehidrasyona maruz kaldığı, bunun da kanda total protein ve albümin konsantrasyonunun yükselmesine yol açtığı açıklanmıştır (Braun, Trumel, & Bezille, 2010). Buna karşın bazı çalışmalarda ise sıcak hava koşullarında total protein konsantrasyonunun düştüğü belirtilmiştir (Abera ve ark., 2021; Dar ve ark., 2019). Bunun nedeni olarak yazın metabolik ısı üretimini azaltmak için yem tüketiminin azaldığı ve buna bağlı serum total protein konsantrasyonunun düştüğü ifade edilmiştir (Dar ve ark., 2019).

Haptoglobin, hayvanların sağlık ve enflamatuvar yanıtını değerlendirmek için en yaygın kullanılan akut faz proteinlerinden biridir (Aleena ve ark., 2016). Doku hasarına veya enfeksiyona yanıt olarak hepatositlerden salınmaktadır (Murata, Shimada, & Yoshioka, 2004). Plazma haptoglobinin, yüksek ortam sıcaklıklarında süt ineklerinde yükseldiği gözlemlenmiştir (Alberghina ve ark., 2013). Yine yapılan bir çalışmada benzer şekilde yaz aylarında ineklerde haptoglobin konsantrasyonunun arttığı belirtilmiştir (Wenz ve ark., 2010).

#### **2.2.3.7. Sıcak Stresinin Hücresel ve Moleküler Etkileri**

Isı şoku proteinleri (HSP), çeşitli stres faktörlerine yanıt olarak uyarılan hücre içi olarak sentezlenmiş bir protein ailesidir. HSP'lerin fizyolojik stresler, patolojik stresler ve çevresel stresler yoluyla uyarılabilmektedir (Catalani ve ark., 2010). Protein sentezinde yer alan HSP'ler, moleküler şaperonların birkaç alt grubuna sınıflandırılabilen ve moleküler ağırlıklarına göre 5 aileye (küçük HSP'ler, HSP60'lar, HSP70'ler, HSP90'lar ve HSP100'ler) ayrılabilir (Kristensen, Løvendahl, Berg, & Loeschcke, 2004). Hücresel tepkiler düzeyinde, HSP'ler stres faktörlerine karşı koruyucu ajanlar olarak kabul edilmektedir. HSP'lerin bu koruyucu rolü genellikle onların denatüre proteinlerle birleşme ve geri dönüşümsüz birikimlerini önleme yeteneklerine dayanan şaperon işlevlerine atfedilmektedir (Collier, Collier, Rhoads, & Baumgard, 2008). Isı şoku yanıtı, HSP ifadesini başlatmak için DNA'daki HSF'lere bağlanan HSF1, HSF2, HSF3 ve HSF4 tarafından organize edilmektedir (Fujimoto, & Nakai, 2010). Archana ve ark. (2017), büyük ökaryotların HSF1'den HSF4'e ürettiğini ve HSF1'in doğrudan çiftlik hayvanlarında termotoleransa bağlı olduğunu bildirmiştir. Sıcak stresi HSF1 ve HSF3'ü aktive ederken, diğer stresörler HSF2'yi aktive etmektedir. HSF1, HSP70 gen ekspresyonunun ana düzenleyicisidir (Archana ve ark., 2017).

İskelet kaslarındaki HSF1 mRNA ve HSP70 mRNA ekspresyonlarının, sıcak stresine yanıt olarak sırasıyla 1,3 ve 3,5 kat arttığı belirtilmiştir (Chauhan ve ark., 2014c). Sıcak stresi koşulları altında HSF1, DNA'ya bağlanma eğilimi gösterip, HSP70 genlerinin transkripsiyonunu arttırmaktadır (Chauhan ve ark., 2014c). HSP70'in bu artan ifadesi, hücrelerin ısı hasarına karşı korunmasında anahtar rol oynayabilmektedir. Yüksek çevre sıcaklığındaki koyunlarda, vücut sıcaklığının

düzenlenmesinde hayati bir rol oynayabilen mononükleer kan hücrelerinde HSP70 ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (Romero, Pardo, Montaldo, Rodriguez, & Ceron, 2013). Horowitz (2002), HSP72'nin sıcak stresine karşı hücrel savunmada ana rolü oynadığını ve HSP'lerin (HSP90 ve HSP70) artan ekspresyonunun koyunlarda solunum hızını ve rektal sıcaklığı azalttığını ve yem tüketimini koruduğunu bildirmiştir. HSP90, normal hücrelerde bulunan, strese hücrel adaptasyonda çok önemli bir rol oynayan ve hücre fonksiyonlarını düzenleyen HSP ailesinin kritik ve yüksek oranda korunmuş bir üyesidir (Pratt, 1997). Yapılan çalışmada, hafif kronik sıcaklık stresi altında yetiştirilen besi sığırlarının kas dokusundan elde edilen adipositlerdeki HSP90 ekspresyonunun, gölgede yetiştirilen hayvanların kas dokularından elde edilen adipositlerdekinden daha yüksek olduğu sonucuna varılmıştır (Di Giacomo, Warner, Leury, Gaughan, & Dunshea, 2014). HSP'ler, sıcak stresinin neden olduğu oksidatif hasarı azaltmada ve hücre korumasında etkin rol oynamaktadırlar (Chauhan ve ark., 2014c). Bunun dışında SOD, nitrik oksit sentaz (NOS), tiroid hormon reseptörü (THR) ve prolaktin reseptör (PRLR) genleri gibi başka genlerin de ruminantlarda termo-tolerans ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Collier, Gebremedhin, Macko, & Roy, 2012).

#### **2.2.3.8. Sıcak Stresinin Asit-Baz Dengesine Etkileri**

Sıcak stresi altındaki hayvanlarda solunum hızı ve terleme artmaktadır, bu da dehidrasyon ve kan homeostazını kontrol etmek vücut sıvısının kaybına yol açmaktadır. Solunum sayısı arttıkça, akciğerler yoluyla karbondioksitin ekspirasyonu da artmaktadır. Bu, kandaki karbonik asit konsantrasyonunun azalmasına ve solunumsa bağlı alkalozu neden olmaktadır (Benjamin, 1978). Bu nedenle, hayvanın karbonik asit:bikarbonat oranını korumak için idrarda bikarbonat atarak yüksek kan pH'sını kompozite etmektedir (Schneider, Beede, Wilcox, and Collier, 1984). Bunun sonucunda rumen pH'sını tamponlamak için yeterli bikarbonat iyonu sağlanamayıp, rumende toplam karbonik asit miktarı artmaktadır. Rumen pH'sı düşerek subklinik ve akut rumen asidozuna neden olmaktadır (Kadzere ve ark., 2002).

#### **2.2.3.9. Sıcak Stresinin Rumen Fizyolojisi, Mikrobiyotası ve Fermantasyonuna Etkisi**

Sıcak stresi altındaki hayvanlar, kanı periferik dokulara dağıtırken, gastrointestinal sistemde vazokonstriksiyon meydana gelmektedir (Lambert, 2009). Bu nedenle hem rumen, hem de bağırsak epiteline besin akışı azalır. Bu durum, bağırsak ve rumen bariyer fonksiyon bütünlüğünü bozmaktadır (Hales, Bell, Fawcett, & King, 1984; Pearce ve ark., 2013b). Ayrıca, bazı kanıtlar, sıcak stresinin DNA, RNA ve protein sentezini doğrudan engelleyebileceğini göstermektedir (Henle, & Leeper, 1979). Sıcak stresine yanıt olarak hayvanlar, metabolik ısıyı azaltmak için gastrointestinal motiliteyi azaltma eğilimindedir, dolayısıyla sindirimin geçiş hızında bir azalma meydana gelmektedir (Schneider, Beede, & Wilcox, 1988). Yapılan çalışmalarda, sıcak stresi koşulları altındaki hayvanlarda daha düşük bir rumen geçiş hızı olduğu bildirilmiştir (Bernabucci, Bani, Ronchi, Lacetera, & Nardone, 1999; Nonaka ve ark., 2008). Bazı araştırmalarda besinlerin gastrointestinal sistemde kalma süresinin artmasına bağlı olarak, sıcak stresi koşulları altında sindirilebilirliğin arttığı belirtilmiştir (Yadav, Singh, Verma, Dutta, & Sejian, 2013). Bununla birlikte, sıcak stresi koşulları altındaki sığırlarda sindirilebilirliğin azaldığını gösteren çalışmalar da gösterilmiştir (McDowell, Moody, Van Soest, Lehmann, & Ford, 1969). Bu azalma, artan su tüketiminin neden olduğu rumen içeriğinin seyrelmesi ve düşük kan akışı nedeniyle besinlerin rumen ve bağırsaktan emiliminin azalmasına bağlı olmaktadır (Silanikove, 1992).

Ayrıca sıcak stresi sırasında ruminantların rumen mikrobiyotası ve fermentasyonu değişmektedir. Sıcak stresine bir yanıt olarak hayvan daha az kaba yem tüketmektedir. Bu da rumen hareketliliğini ve geviş getirmeyi azaltarak rumen mikrobiyal popülasyonunu değiştirip, rumen pH'sını düşürmektedir (Hall, 2009). Buna bağlı olarak rumen fermentasyon ürünleride değişmektedir. Uyeno ve ark. (2010) sıcak stresi koşullarında düvelerde bütirat üreten bakteriler artarken, asetat üreten bakterilerin temsilcisi olan *Fibrobacter* cinsinin azaldığını bildirmişlerdir. Yine Nonaka ve ark. (2008), sıcak stresi altındaki hayvanlarda asetat üretiminin azaldığını, buna karşın rumen fonksiyonu değişikçe propiyonat ve bütirat üretiminin arttığını bildirmişlerdir. Bunun nedeni olarak, hayvanların sıcak stresi koşullarında kaba yem tüketimlerini azaltıp, konsantre yem tüketimlerini arttırması gösterilmektedir. Bu da kaba yemlerden kaynaklanan asetat üretimini azaltmaktadır. Tajima ve ark. (2007) sıcak stresi koşullarında uçucu yağ asitleri (UYA) miktarının



azaldığını belirtmişlerdir. Bu değişiklikler, buzağılarda büyüme performansını bozmaktadır, çünkü uçucu yağ asitleri zamanla onların birincil enerji kaynağı haline gelmektedir (Tajima ve ark., 2007).

#### **2.2.3.10. Sıcak Stresinin Davranış Üzerine Etkisi**

Davranışsal adaptasyon, ısı yükünü azaltmak için hayvanlar tarafından benimsenen ilk ve en önemli tepki olarak kabul edilmektedir (Shilja et al., 2016). Sıcak stresi yaşayan hayvanlarda görülen en hızlı davranış değişikliklerinden biri gölge arayışıdır. Stresli hayvanlar, doğrudan ısı yükünün olumsuz etkilerini, erişebildikleri her yerde gölgeye ulaşarak iyileştirmeye çalışmaktadırlar. Araştırmalar, süt sığırlarının bu davranışın sıklığının artması hava sıcaklığı ve güneş radyasyon artmasına bağlı olduğunu göstermektedir (Curtis, Scharf, Eichen, & Spiers, 2017).

Ruminantlarda artan ısı yükü kaybına karşı bir diğer önemli ve iyi belgelenmiş davranışsal tepki, yem tüketiminin azalmasıdır. Yakın zamanda yapılan araştırmalar, sığır, koyun ve keçi dahil olmak üzere çeşitli çiftlik hayvanlarında yaz aylarında daha düşük yem tüketiminin olduğunu ortaya koymuştur (Lacetera, Bernabucci, Ronchi, & Nardone, 1996; Shilja ve ark., 2016; Spiers, Spain, Sampson, & Rhoads, 2004). Hayvanlar sıcak hava koşullarında metabolik ısı üretimini azaltmak için yem tüketimini azaltmakta ve yem tüketimlerini serin olan gece saatlerine kaydırmaktadırlar. Ayrıca, sıcak stresinde ruminasyon süresi azalmaktadır (Vijayakumar, Pandey, Singh, Dutt, & Tomar, 2009).

Su, sıcak stresi sırasında önemli bir besindir ve suyun özellikleri, vücuttan çevreye ısı transferi için önemli bir faktördür (Loneragan, Wagner, Gould, Garry, & Thoren, 2001). Yaz aylarında çeşitli hayvan türleri için su içme sıklığı ve tüketiminin arttığı rapor edilmiştir (Shilja ve ark., 2016). Buzağılar artan solunum ve terleme yoluyla su kaybedebileceğinden, sıcak havalarda su ihtiyacı yükselmektedir (Broucek, Kisac, & Uhrincat, 2009).

Ayakta durma süresinin artması ve yatma süresinin azalması, sıcak stresinin önemli göstergesi olabilir (Provolo, & Riva, 2009). Genel olarak, sıcak stresi altındaki hayvanlar, doğrudan güneş radyasyonundan ve yer radyasyonundan

kaçınmak için ayakta daha fazla zaman harcama eğilimindedir. Bu davranış aynı zamanda ayakta dururken hayvanın konveksiyon yoluyla ısı alışverişi için daha geniş bir vücut yüzey alanına sahip olması ve daha fazla ısı kaybedebilmesini sağlamaktadır (Herbut, & Angrecka, 2018).

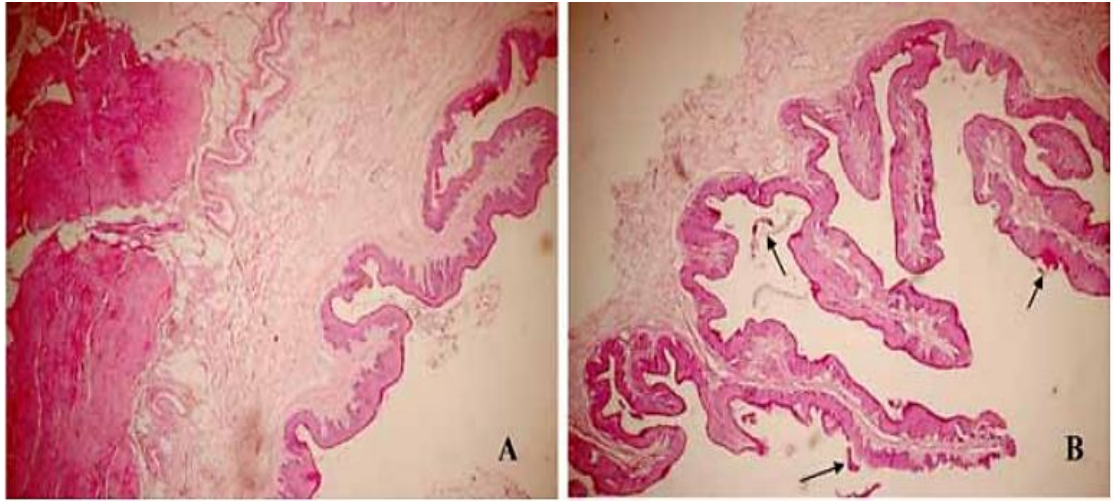
Hayvanlardan çevreye ısı kaybı, ter, tükürük ve solunum salgılarının buharlaşması yoluyla olur. Şiddetli dehidrasyona yol açan solunum ve deri yoluyla buharlaşmalı soğutma mekanizmalarının artması, idrar ve dışkılama sıklığının azalmasına yol açmaktadır. Sıcak stresi altındaki Holstein ineklerde, idrar çıkışında önemli bir azalma ile birlikte idrar sodyum atılımında artış gözlenmiştir (El-Nouty, Elbanna, Davis, & Johnson, 1980).

Buzağılarda yüksek sıcaklık stresinin klinik belirtileri arasında, ağız açık nefes nefese soluma, salya akıntısı, kulaklarda düşme, gözlerde akıntı ve genel durgunluk yer almaktadır (Pena ve ark., 2016).

#### **2.2.3.11. Sıcak Stresinin Performans Parametrelerine Etkisi**

Hayvanlar yüksek çevre sıcaklığına maruz kaldığında, solunum hızını ve su tüketimini arttırarak, yem tüketimini ise azaltarak vücutlarından ıyıyı atmaktadırlar (Kadzere ve ark., 2002). Çevre sıcaklığındaki artış, hipotalamusun iştah merkezi üzerinde doğrudan olumsuz etki yaparak yem tüketiminin azalmasına yol açmaktadır (Baile, & Forbes, 1974). Hayvanlarda yem tüketiminin azalması, sıcak stresi koşullarına metabolik ısı üretimini azaltmaya yardımcı olmaktadır (Avendano-Reyes ve ark., 2010). Süt sığırlarında sıcak stresi durumunda yem tüketimi ve süt üretimi azalmaktadır. Holstein ineklerde yapılan çalışmada, sıcak stresinin kuru madde tüketimi (% 61,9'a kadar) azalttığı tespit edilmiştir (Lamp ve ark., 2015). Ayrıca sıcak stresi buzağı ve düvelerin kuru madde tüketimini ve büyüme performansını olumsuz etkilemektedir. Yapılan çalışmalarda yaz aylarında doğan ve sıcak stresi altındaki buzağuların buzağı başlangıç yemi, süt ikame yemi ve kuru madde tüketiminin önemli ölçüde düştüğünü göstermiştir (Broucek ve ark., 2009; Dado-Senn ve ark., 2020; Rauba ve ark., 2019). Hossein-Yazdi ve ark. (2016) tarafından yapılan bir çalışmada, sıcak stresine maruz kalan, buzağuların metabolik ısı üretimini azaltmak için kuru madde tüketiminde %23 oranında azalttığı belirtilmiştir. Sıcak

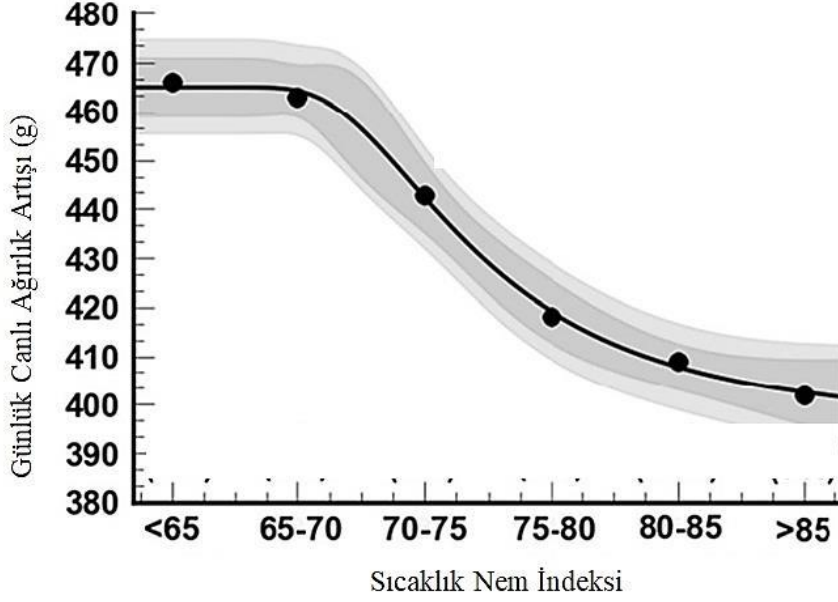
stresinde hayvanların kuru madde tüketimlerinin düşmesinin yanında, hayvanların kaba yem tüketimi konsantre yem tüketimine göre daha fazla azaldığı görülmektedir. Bunun nedeni kaba yemler sindirildiğinde konsantre yeme göre daha fazla metabolik ısı açığa çıkarmasından kaynaklanmaktadır (Coppock, & West, 1986). Bu da rumen papillalarının kaba yem noksanlığında uzamasına işaret etmektedir. Yapılan çalışma sıcak stresi altındaki buzağuların papilla uzunluğunun, kısıtlı yemleme yapılan buzağularinkinden % 51 daha uzun olduğu gösterilmiştir (Şekil 11) (Hossein-Yazdi ve ark., 2016).



**Şekil 11.** (A) kısıtlı yemleme yapılmış buzağuların papillaları; (B) Sıcak stresine maruz kalan buzağuların rumen papillaları (Hossein-Yazdi ve ark., 2016).

Ortam sıcaklığı arttıkça, kuru madde tüketiminin azalması nedeniyle buzağuların ve enerji alımında azalmaktadır. Fakat ısı yükünü ortadan kaldırmak için harcanan enerji artmaktadır. Sonuç olarak, sıcak stresi altındaki buzağular, ısı regülasyonu için büyüme enerjisinin bir kısmını harcamaktadırlar. Ayrıca yemden gelen enerjinin de bir kısmı ısı regülasyonu için kullanılmaktadır. Bu da canlı ağırlık artışı, büyüme performansı ve yemden yararlanma oranının azalmasına sebep olmaktadır (Şekil 12) (Nonaka ve ark., 2008). Yapılan çalışmalarda sıcak stresinin kuru madde tüketimini azaltmasının, hayvanların daha düşük canlı ağırlık artışına sebep olduğu belirtilmiştir. Ayrıca hayvanların süttten kesim ağırlığının daha düşük ve ilk buzağılama yaşının daha geç olmasına neden olmaktadır (Heinrichs, Heinrichs, Harel, Rogers, & Place, 2005; Hossein-Yazdi ve ark., 2016; Lopez ve ark., 2018). Sıcak stresinde buzağuların büyüme hızının azalmasında en önemli etken buzağı

başlangıç yemi tüketiminin azalması olarak açıklanmaktadır. Ancak aynı zamanda değişen endokrin durum, geviş getirmede azalma, besinlerin emilimindeki azalma da performansı etkilemektedir (Lopez ve ark., 2018).



**Şekil 12.** Buzağılarda sıcak stresi günlük canlı ağırlık artışı üzerine etkileri (Lopez ve ark.,2018).

Sıcak stresinin buzağılar üzerindeki etkisi daha anne karnında geç gebelik sırasında başlamaktadır. Prenatal dönemde yaşanan bu etki buzağının postnatal performansını olumsuz etkilemekte ve buzağuların doğum ağırlığı düşmektedir (Laporta ve ark., 2017). Doğum ağırlığının azalmasının birden fazla nedeni vardır. Fakat genel neden olarak sıcak stresi sırasında annenin yem tüketiminin düşmesi en büyük sebep olarak görülmektedir (Rhoads ve ark., 2009; West, 2003). Bununla birlikte gebe ineklerde sıcak stresi sırasında plasental hormon üretiminde azalma, uteroplazental kan akışında değişiklik, maternal-fetal glikoz ve amino asit alışverişinde bozulma meydana gelmektedir. Tüm bu nedenlerden dolayı buzağının doğum ağırlığı azalmakta ve postnatal dönemde buzağuların yem tüketimi ve süten kesim ağırlığı düşmektedir (Dahl, Tao, & Monteiro, 2016; Lopez ve ark., 2018). Ayrıca geç gebelik döneminde annelerin sıcak stresine maruz kalması buzağuların bağışıklık sisteminin düşmesine sebep olmakta, bu da buzağuların performansını olumsuz etkilemektedir (Merlot, Couret, & Otten, 2008; Tao, Monteiro, Thompson, Hayen, & Dahl, 2012). Son zamanlarda yapılan bir çalışmada prenatal dönemde

sıcak stresine maruz kalan annelerden doğan buzağuların doğum ağırlığının 2,4 kg ve sütten kesim ağırlığının 6,6 kg düştüğü ve günlük canlı ağırlık artışlarının %10 azaldığı görülmüştür (Dado-Senn ve ark., 2020).

#### **2.2.4. Sıcak Stresini Hafifletme ve Korunma Yöntemleri**

##### **2.2.4.1. Çevresel stratejiler**

Solar (güneş) radyasyon ve hava sıcaklığı, sığırların termal konforunu doğrudan etkileyen iki ana meteorolojik değişkendir (Berman, 2019). Fanlar, evaporatif soğutma, su fiskiye ve gölge kullanımı sığırların sıcak stresine karşı ortam sıcaklıklarını değiştirmek için kullanılan en yaygın stratejilerdir (Berman, 2019; Henry, Eckard, & Beauchemin, 2018). Yeterli miktarda gölge sağlamak, güneş ışınlarına karşı bir bariyer görevi görerek, ısı yükünü, ortamdaki hava sıcaklığını azaltmakta ve hayvan refahını artırmaktadır (Karvatte ve ark., 2016). Gölge kullanılmasıyla, doğrudan güneş radyasyonu yoluyla gelen ısı yükü %45'e kadar azaltabilmektedir (Kamal ve ark., 2018). Yapılan çalışmada Angus sığırlarının gölgeye erişimleri olduğunda ekstra 11 kg daha fazla canlı ağırlık kazandıkları gözlenmiştir (Sullivan, Cawdell-Smith, Mader, & Gaughan, 2011). Fakat fiske ve fanlar olmadan sadece gölge kullanmak özellikle süt sığırlarında sıcak stresiyle baş etmede yetersiz kalmaktadır. Yapılan bir çalışmada fiske ve fanlar ile soğutma yapılan ineklerin, sadece gölge sağlanarak soğutma yapılan ineklere göre 6,3 kg/gün daha fazla süt ürettiği gözlemlenmiştir. Aynı çalışmada, fiske ve fanlar ile soğutma yapılan ineklerin rektal sıcaklıkları ve solunum sayılarının daha düşük olduğu ve ineklerin sıcak stresinden daha az etkilendikleri görülmüştür (Tao ve ark., 2012). Holstein süt inekleri için tavsiye edildiği gibi, evaporatif soğutma yoluyla ısı kaybını iyileştirmek için fanlar ve fiskiye ile donatılmış kapalı üretim sistemlerinin uygulanması oldukça başarılı sonuçlar vermektedir. Özellikle 30°C ve üzerindeki çevre sıcaklıklarında fanların ve sprinklerin birlikte kullanımı sıcak stresine karşı oldukça etkili olmaktadır (Dinçel, & Dikmen, 2013).

##### **2.2.4.1.1. Buzağularda Sıcaklık Yükünü Azaltmaya Yönelik Çevresel Stratejiler**

Uygun bir buzağı barınma ortamının temiz, kuru ve iyi havalandırılmış olması gerekmektedir. Kulübelerin içindeki hava sıcaklığı, ortam hava sıcaklığı ile

ilişkilidir, ancak doğrudan güneş radyasyonu ile yükselmektedir (Kawabata, Castro, & Savastano Júnior, 2005). Yaz aylarında, polietilen kulübeler gölge altına yerleştirilse bile mikro ikliminin kontraplak kulübelere göre daha kötü olduğu bildirilmiştir (Peña ve ark., 2016). Hill ve ark. (2011) yaz aylarında polietilen kulübelerin içindeki sıcaklığın dışarıya göre 2°C daha yüksek ve bağıl nemin 8°C daha yüksek olduğunu belirtmiştir. Yüksek bağıl nem, yoğunlaşmaya neden olup; duvarların, yatakların ve tüylerin ıslanmasına neden olabilmektedir. Bu, sentetik barakaların soğuk, yağmurlu veya rüzgarlı koşullarda faydalı olabilecek, ancak sıcak veya nemli koşullarda dezavantajlı olabilecek bir mikro iklim sağladığını düşündürmektedir (Donovan, Badinga, Collier, Wilcox, & Braun, 1986). Dayanıklı ve daha hijyenik fiberglas barakaların pratikliği, onları açık havada yetiştirilen buzağılar için en popüler barınak türü haline getirmiştir.

Buzağı kulübelerinin yapıldığı plastiğin termal özellikleri iyileşmektedir, fakat gölgeleme yoluyla plastik ve fiberglas kulübelerin ısı yükünün ve ısı absorpsiyonunun yaz aylarında azaltılması gerekmektedir. Gölgeleme, kulübelerin içindeki ve dışındaki sıcaklığı azaltmaktadır. Buzağuların solunum hızı genellikle gölgede daha düşüktür ve buzağular gölgeli alanlarda daha fazla yatarak zaman geçirmektedir (Gu ve ark., 2016; Kovács ve ark., 2019). Yapılan çalışmada, 2 metre yüksekliğe kurulan sera gölgeleme ağları (%80-85 gölge oranı), buzağularda sıcak stresi bulgularını hafiflettiği belirtilmiştir (Kovács ve ark., 2019).

Havalandırma, nemli ısıtılmış havayı ve birikmiş toksinleri uzaklaştırmak ve yerine taze daha kuru hava koymak için önemlidir. Açık havalandırma aralıkları veya pencereleri olsa bile, birçok kulübeden geçen hava akışı optimal değildir. Karbondioksit, havalandırma seviyesinin bir göstergesidir (De Sousa, & Pedersen, 2004). Karbondioksit, solunum ve gübrenin ayrışmasıyla üretilir, uygun şekilde havalandırılmayan kulübelere birikmektedir. İyi havalandırılan kulübelere karbondioksit seviyelerinin ortalama 350 ppm olması gerekmektedir (Prill, 2000). Yaz aylarında, kulübelerin arka duvarın kaldırılarak havalandırılması ortam şartlarını iyileştirmektedir (Şekil 13). Yapılan çalışmada kulübelerin arka tarafının yükseltilmesi, hava hızını artırır, kulübelerin iç sıcaklığını ve karbondioksit

seviyesini düşürmüştür (Moore, Duprau, & Wenz, 2012). Fanların kullanımı uygun bir mikro iklim sağlamaktadır. Yapılan çalışmada doğal olarak havalandırılan bir



**Şekil 13.** Sıcak stresi iyileştirme denemesinde beton bloğun plastik buzağı kulubelerinin altına yerleştirilmesi (Moore ve ark., 2012).

ahırda günde 9 saat fanla soğutma, buzağuların ortalama günlük canlı ağırlık artışını %23 ve yemden yararlanma oranını %20 arttırmıştır (Hill ve ark., 2011).

Evaporatif soğutma, sığırlar için birincil ısı dağılımı yöntemi olduğundan, kulübeler rüzgar hızı maksimuma ve iç nem minimuma indirilecek şekilde yerleştirilmelidir. Sıcak iklimlerde kulübeleri kuzeye yönlendirmek, buzağular için gölgeyi en üst düzeye çıkarmaktadır. Güneye bakan kulübelerde buzağuların gün boyunca en yoğun güneş radyasyonuna ve en az miktarda gölgeye maruz kalmasına sebep olmaktadır (Bakony, Kiss, & Jurkovich, 2019).

#### **2.2.4.2. Sıcaklığa Dayanıklı Genlerin Seçimi**

Yüksek verimli ırklardan sıcaklığa dayanıklı hayvanların seçilmesi, sıcak stresi dönemlerinde yüksek verimin korunmasını sağlayabilmektedir. Süt veriminden

ödün vermeden termotolerans ile ilgili özellikleri kontrol eden belirli genlerin seçilmesi arzu edilmektedir (Hansen, & Areéçhiga, 1999). Daha açık kıl rengine ve daha kısa kıla sahip sığırlar, daha koyu renkli ve daha uzun kıl örtüsüne sahip hayvanlara göre sıcak stresinden daha az etkilenmektedir (Bernabucci ve ark., 2010). Kısa kıl geni, dominant bir gen olup, sıcak stresine karşı dayanıklılığı arttırmaktadır. Dominant olan bu gene sahip olan boğanın spermaları kullanılarak doğacak olan yavrular kullanılarak sıcak stresine karşı dayanıklılık arttırabilmektedir (Dikmen ve ark., 2008).

Ayrıca HSP genlerine sahip olan hayvanların termotolerans kapasiteleri yüksektir. Çünkü ısı şoku proteinleri, hücreleri sıcak stresinden korumaktadır. Bu genlere sahip hayvanların kullanımı sıcak stresine karşı dayanıklılığı arttırmaktadır (Das ve ark., 2016).

#### **2.2.4.3. Sıcak Stresini Azaltmak İçin Beslenme Yönetimleri**

Sıcak stresinde buzağuların vücutlarındaki ısıyı atması için enerji harcamaktadırlar ve doğal olarak enerji ihtiyaçları artmaktadır. Fakat sıcak stresinde kuru madde tüketimleri ve özellikle buzağı başlangıç yemi tüketimleri azalmaktadır. Buna bağlı olarak yaz aylarında buzağuların büyüme hızı azalmaktadır. Kilo alımını desteklemek için besin yoğunluğunu artırmak veya farklı yem katkı maddelerinin kullanımı sıcak stresinde uygulanan ana stratejilerdir.

##### **2.2.4.3.1. Rasyon Kompozisyonundaki Değişiklikler ve Su İlavesi**

Sıcak havalarda buzağuların su tüketiminin artmasına bağlı olarak sıvı yemi katı yiyeceklere tercih ettiği düşünüldüğünde, süt ikame yemlerinin miktarını ve enerji içeriğini artırmak olumlu sonuçlar vermiştir. Yapılan çalışmada % 21 ham protein ve % 21 yağ içeren süt ikame yeminin kuru madde bazında günlük 0,44 kg'dan, 0,66 kg'a çıkarılmasıyla buzağuların günlük canlı ağırlık kazancının arttığı görülmüştür (Hill ve ark., 2012). Yaz aylarında 3-56 günlük buzağularda yoğun süt ikame yemi ile besleme programı (günlük 0.66 veya 0.77 kg KM, %26 ham protein, %17 yağ) uygulandığında buzağuların enerji alımını ve kilo alımının iyileştiği belirtilmiştir (Orellana Rivas ve ark., 2020). Sıcak stresinde süt ikame yeminin yağ içeriğinin %10'dan %20'ye çıkarılması, buzağuların süttten kesim ağırlığını arttırdığı



görülmüştür (Blair, 2015). Ayrıca buzağı başlangıç yemine su eklenmesinin lezzeti arttırdığı gösterilmiştir. Yapılan çalışmada buzağı başlangıç yemine su eklenerek kuru maddesi %75 ve %50'ye düşürüldüğünde, buzağı başlangıç yemi tüketimi ve günlük ortalama canlı ağırlık kazancının arttığı belirlenmiştir (Beiranvand ve ark., 2016). Ayrıca düzenli olarak taze, temiz su sağlanması, kulübede yetiştirilen buzağılarda daha yüksek ağırlık artışı sağlamıştır (Wiedmeier, Young, & Hammon, 2005).

#### **2.2.4.3.2. Vitamin, Mineral ve Maya İlavesi**

A, C ve E vitaminlerinin ve çinko gibi minerallerin takviyesi, sıcak stresine bağlı oksidatif hasarın hafifletilmesine yardımcı olabilmektedir. E vitamini, lipid peroksidasyonunun bir inhibitörü olarak, askorbik asit ise peroksil radikallerinden kaynaklanan lipid peroksidasyonunu önleyerek görev yapmaktadır. Ayrıca E vitamini, C vitamini ve çinkonun oksidatif stres sırasında ROT'ni temizlediği bilinmektedir (Sunil, Kumar, Singh, & Meur, 2010). Sıcak stresindeki buzağılara sütten kesme periyodunda A ve E vitaminleri ile mikro element kombinasyonu (çinko ve selenyum), verildiğinde büyüme performansının, bağışıklık fonksiyonlarının ve antioksidan kapasitenin arttığı belirtilmiştir (Bordignon ve ark., 2019). Hayvanların antioksidan savunma sistemini iyileştirmek için selenyum gibi mineraller, hayvanlar için zararlı olan reaktif oksijen türlerinin üretimini azalttığı belirtilmiştir (Min ve ark., 2019). Kromun insülin etkisini güçlendirdiği ve glikoz metabolizmasını geliştirdiği bilinmektedir. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, sıvı ve katı yemlere krom ilavesinin, buzağılarda solunum hızını azalttığı, insülin ve yem tüketimini arttırdığı belirtilmiş ve sıcak stresine maruz kalan buzağılarda krom ilavesinin büyüme performansını iyileştirdiği ifade edilmiştir (Kargar ve ark., 2018). Niasin perifer dokulardaki kan damarlarında vazodilasyona sebep olarak, terleme hızında artış sağlamakta ve terin cilt yüzeyinden buharlaşmasıyla ısı kaybı şekillenmektedir. Yüksek verimli ineklerde kapsüle edilmiş niasin ilavesinin, perifer dokularda vazodilatasyonu arttırdığı ve vajinal sıcaklıkta 0,4°C'lik bir azalmaya yol açtığı belirtilmiştir (Zimbelman, Collier, & Bilby, 2013). Ayrıca sıcak stresinde maya kullanımının bağırsak florası üzerindeki dengeleyici etkisi nedeniyle lipopolisakkarit emilimini azalttığı belirtilmiştir. Yapılan çalışmada 1-28 günlük

buzaguların süt ikame yemlerine *Saccharomyces boulardii* ilavesinin kuru madde tüketimini arttirdığı ve bağırsak sağlığını iyileştirdiği gösterilmiştir. Ayrıca rektal sıcaklık ve kortizol seviyesinin azaldığı belirtilmiştir (Lee ve ark., 2019 ).

#### 2.2.4.3.3. Alternatif Yem Katkı Maddeleri ve Bitkisel Ekstraktlar

Sıcak stresinde gastrointestinal sistemde oluşan hasarı gidermek için çinko veya L-glutamin takviyelerinin yapıldığı belirtilmiştir (Hassan, Ebeid, Abd El-Lateif, & Ismail, 2011; Johnson, & Lay, 2017). L glutamin, lenfositler ve enterositler gibi hücrelerin hızla bölünmesi için ana enerji kaynağı olan esansiyel bir amino asittir (Reeds, & Burrin, 2000). Bu nedenle proinflatuar sitokinleri baskılayan bir immünomodülatör olarak kabul edilmektedir (Jiang ve ark., 2009). L glutamin ilavesi, bağırsak atrofi, oksidatif savunma kapasitesi, besin emilimini arttırarak bağırsak bariyer fonksiyonunu güçlendirmektedir (Jiang ve ark., 2009).

Moringa (*Moringa oleifera*), kekik (*Origanum vulgare*), tarçın (*Cinnamomum zeylanicum*), yeşil ay (*Camellia sinensis*) ve sarımsak (*Allium sativum*) gibi alternatif yemler ve ekstraktlarını antioksidan potansiyellerinden dolayı, oksidatif stresi azaltmak için kullanılmıştır (Cho ve ark., 2014; Cohen-Zinder ve ark., 2017; Staerfl, Soliva, Leiber, & Kreuzer, 2011; Stivanin ve ark., 2019). Cohen-Zinder ve ark. (2017) *Moringa oleifera* silajının süt ineği rasyonlarında kuru madde bazında 270 gram kullanılmasının, günlük süt üretiminde 4 kg artış ve somatik hücre sayısında azalma sağladığını belirtmişlerdir. Bunun nedeni olarak, moringanın önemli miktarda protein ve vitamin varlığı, ayrıca önemli antioksidan potansiyeli kaynağı olduğuna bağlamışlardır. *Radix Bupleuri* ekstraktı, Holstein ineklerin rasyonuna eklendiğinde 31,0°C'lik bir hava sıcaklığında solunum sayısının dakikada 11 kez azaldığı belirtilmiştir (Pan ve ark., 2014). Yapılan çalışmada sarımsak kahverengi alg (*Undaria pinnatifida*) ve çamın (*Pinus koraiensis*) kombine ekstraktlarının Holstein ineklerin rasyonuna %0.016 eklenmesi, sıcak stresinde antioksidan kapasiteyi iyileştirdiği ve 1,1 litre süt artışı sağladığı belirtilmiştir (Lee, Kang, Kim, Han, & Lee, 2020). Jersey ineklerinin rasyonuna kekik ilavesinin, mastitis vakalarını azalttığı, süt üretimini arttirdiği ve saldırgan davranışları azalttığı belirtilmiştir (Stivanin ve ark., 2019).

### 2.3. Üzüm Çekirdeği Ekstraktı

Üzüm (*Vitis vinifera*) dünyada yıllık 77 milyon ton, ülkemizde ise yıllık 4,2 milyon ton üretim ile en fazla üretilen meyvelerinden biridir (FAO, 2013). Üzüm genel olarak etanol, meyve suyu ve şarap üretimi için işlenmektedir. Özellikle şarap ve meyve suyu yapımında üzümün kullanımı sonucu, üzüm ağırlığının yaklaşık %20'si kadar saplar, kabuklar, tohumlar gibi muazzam miktarlarda yan ürünler ortaya çıkmaktadır (Llobera, & Canellas, 2007). Üzüm prinası (çekirdek ve kabuk) göz önüne alındığında, tohumların kuru maddesi toplam prinanın %38 ila %52'sini oluşturmaktadır ve taze üzüm posasının ise yaklaşık %17'sini oluşturmaktadır (Fernandes, Casal, Cruz, Pereira, & Ramalhosa, 2013; Toscano ve ark., 2013). Üzüm çekirdeğinin bileşimi doğal halde; lif (%40), uçucu yağ (%16), protein (%11), tanenler gibi kompleks fenolik bileşikler (%7) ve şekerler ile mineraller gibi diğer maddelerden oluşmaktadır (Campos, Leimann, Pedrosa, & Ferreira, 2008).

Üzümün kullanımı sonucu kalan yan ürünler, polifenoller bakımından zengindirler. Polifenoller, bir veya daha fazla benzen halkasına bağlı birden fazla fenolik hidroksil grubuna sahip bileşiklerdir (Vermerris, & Nicholson, 2006). Polifenoller, birçok biyolojik aktiviteye ve sağlığı geliştirici faydalara sahip oldukları için üzümdeki en önemli fitokimyasallardır. İçerdikleri fenol halkalarının sayısına ve bu halkaları birbirine bağlayan yapı elementlerine göre fenolik asitler, flavonoidler, stilbenler (resveratrol) ve lignanlar gibi farklı gruplara ayrılmaktadırlar. En büyük ve en çok çalışılan polifenol grubu flavonoidlerdir. Flavonoidler; antidiyaretik, antibiyotik, antienflamatuar ve yüksek antioksidan kapasitelerinin yanı sıra kardiyoproteksiyon gibi sayısız terapötik özellikleri nedeniyle son zamanlarda ilgi çekmektedir (Smithson, 2016). Flavonoidler moleküler yapılarına göre yedi alt sınıfa ayrılmaktadırlar. Bunlar flavonlar (apigenin ve luteolin), flavanonlar (hesperidin, naringenin ve eriodictyol), flavonoller (kaempferol, quercetin, myricetin), izoflavonlar (daidzein, genistein ve glisitin), antosiyanidin/antosiyadinler (siyanidinler, delphinidinler vb.), flavanoller (kateşinler ve prosiyanidinler) ve kalkonlardır (Manach, Scalbert, Morand, Rémésy, & Jiménez, 2004).

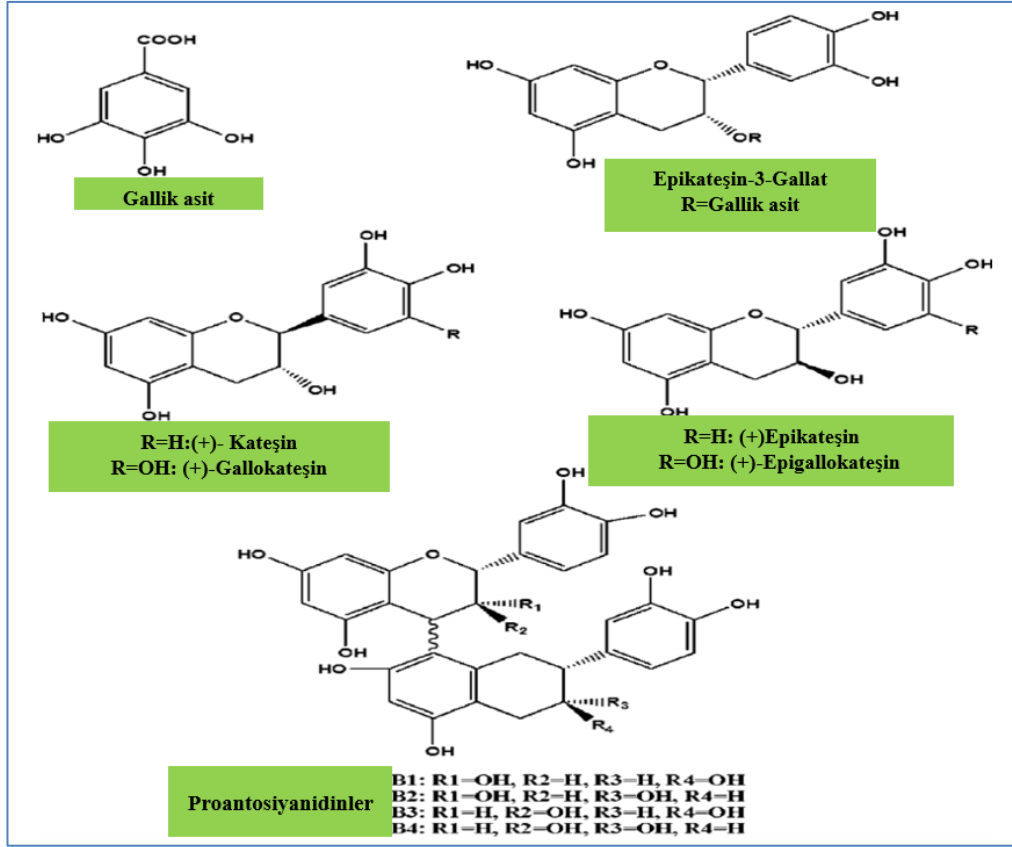
#### 2.3.1. Üzümde Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması, Kimyasal Bileşimi ve Dağılımı

Fenolik bileşikler üzümün sulu orta kısımlarından ziyade esas olarak kabuk, gövde, yaprak ve tohumda bulunmaktadır (Tablo 2) (Dorri ve ark., 2012; Xia, Deng, Ya-Jun Guo, & Hua-Bin Li, 2010). Yapılan araştırmada fenolik bileşiklerin toplam konsantrasyonu çekirdek (tohum), kabuk, gövde ve yaprakta sırasıyla yaklaşık 2178.8, 374.6, 23.8 ve 351.6 mg/g GAE (gallik asit eşdeğeri) olarak ölçülmüştür (Pastrana-Bonilla, Akoh, Sellappan, & Krewer, 2003). Üzümde bulunan toplam ekstrakte edilebilir fenoliklerin, üzümün özünde yaklaşık % 10 veya daha az, tohumlarda % 60-70 ve kabukta % 28-35 olduğu belirtilmiştir. Çekirdekteki fenolik madde içeriği ağırlıkça % 5 ile % 8 arasında değişebilmektedir (Shi, Pohorly, & Kakuda, 2003).

**Tablo 2.** Üzümün farklı kısımlarının ve üzüm ürünlerinin içerdiği fenolik bileşikler

Kaynak	Fenolik bileşikler
Çekirdek	gallik asit, (+)-kateşin, epikateşin, dimerik prosiyanidin, proantosiyandinler
Kabuk	elajik asit, proantosiyandinler, mirisetin, kuersetin, kaempferol
Yaprak	mirisetin, elajik asit, kaempferol, kuersetin, resveratrol, astilbin, hidroksisinnamik asit, hidroksimetilfurfural
Sap	rutin, kuersetin 3-o-glukuronid, resveratrol, astilbin
Kuru üzüm	hidroksisinnamik asit, hidroksimetilfurfural
Kırmızı şarap	malvidin-3-glukozit, peonidin-3-glukozit, siyanidin-3-glukozit, petunidin-3-glukozit, kateşin, kuersetin, resveratrol, hidroksisinnamik asit

Üzüm çekirdeğinde en fazla flavanoller bulunmaktadır. Bu bileşikler, basit monomer olan kateşin, epikateşinin, epikateşin gallat, dimerik prosiyanidinler (A1, B1, B2, B3, B4 ve B8) ve trimerik prosiyanidinlerdir (C1 ve T2) (Crozier, 2003). Diğer flavonoid sınıflarından farklı olarak, flavanoller gıdalarda glikolize edilmez. Kateşin, tüm flavanollerin en fazla olanıdır. Üzüm posası içinde monomer ve dimer izleri bulunmasına rağmen, bunlar daha çok üzümün tohumlarında ve kabuğunda bulunmaktadır. Fenolik asit, esas olarak hidroksisinnamik (tartarik asit esterleri formunda) kabukta ve meyve özünde bulunmaktadır. Kabukta flavonoller, stilben türevleri ve antosiyaninler bulunmaktadır (Rodríguez-Montealegre, Romero, Chacón, Martínez, & García, 2006).



**Şekil 14.** Üzüm çekirdeğinde bulunan başlıca polifenollerin kimyasal yapısı (Verpoorte ve ark., 2010).

### 2.3.2. Fenolik Bileşiklerin Üzümde Ekstraksiyonu, Sıfırlanması ve Tanımlanması

Üzümde fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için genellikle sıvı-sıvı ekstraksiyon metodu kullanılmaktadır. Ekstraksiyon çözücüsü genellikle etanol, metanol, aseton veya formik asit ve farklı oranlarda sudan oluşmaktadır (Guerrero ve ark., 2009). Çözücü ekstraksiyonu, üzümde fenolik bileşiklerin yüksek oranda geri kazanımını sağlasa da, büyük miktarlarda organik çözücülerin kullanılması, bazen sağlık ve güvenlik riskleri oluşturmaktadır. Bu nedenle, mikrodalga destekli ekstraksiyon, ultrason destekli ekstraksiyon, süper kritik sıvı ekstraksiyonu, kritik altı su ekstraksiyonu gibi üzümde fenoliklerin ekstraksiyonu için birkaç yöntem geliştirilmiştir (Xia ve ark., 2010). Bu ekstraksiyon yöntemleri, organik çözücülerin kullanımını önemli ölçüde ortadan kaldırmakta veya azaltabilmektedir. Bu bileşiklerin ekstraksiyon tortusundan ayırmanın en yaygın yolu, yüksek sıcaklıklarda

genellikle asit olan hidroliz reaksiyonları kullanılmaktadır. Bu sadece bitkisel yapıya bağlı polifenollerin salınmasına izin vermemekle kalmaz, aynı zamanda yüksek moleküler ağırlıklı bileşiklerin, bilinen modeller kullanılarak ölçülebilen daha basit yapıdaki bileşiklere depolimerizasyonunu sağlamaktadır (Brenes, Viveros, Chamorro, & Arija, 2016).

Toplam fenolik içerik Folin–Ciocalteu yöntemi kullanılarak kolorimetrik bir yöntemle analiz edilmektedir (Singleton, Orthofer, & Lamuela-Raventos, 1999). Bu yöntemde standart olarak ferulik asit veya gallik asit kullanılıp, toplam fenolik içerik mg/L ferulik asit eşdeğeri veya numunenin taze ağırlığına karşı (mg/g) GAE olarak ifade edilmektedir (Pastrana-Bonilla ve ark., 2003). Kondanse tanenleri belirlemek için ayrıca vanilin yöntemi de kullanılmıştır (Okuda, Yoshida, & Hatano, 1989). Ancak, çözücünün doğası, pH değeri ve örneğin yağlar, vitaminler ve amino asitler gibi UV-vis'i emen diğer bileşiklerin varlığı nedeniyle, bu yöntemler çok doğru değildir. Son yıllarda, polifenollerin analizi üzerine yapılan çalışmaların çoğu, kromatografik ayırma yöntemlerinin (özellikle yüksek performanslı sıvı kromatografisi veya HPLC) kullanımına ve ardından kütle spektrometrisi (MS) kullanılarak yapısal karakterizasyona dayanmaktadır. Bu metodoloji (HPLC-MS) şu anda ekstrakte edilebilir polifenolik bileşiklerin miktarını belirlemek için kullanılmaktadır (Chafer, Pascual-Martí, Salvador, & Berna, 2005; Pinelo, Shene, Sineiro, & Nuñez, 2007).

#### **2.3.4. Üzüm Polifenollerinin Sindirimi, Emilimi ve Metabolizması**

Polifenollerin biyolojik etkilerini açıklamak için biyolojik olarak kullanılabilir oldukları ve hedef dokulara ulaşmada etkili oldukları varsayılmaktadır (Manach, ve ark., 2004). Bu nedenle vücuttan nasıl emildiğini, metabolize edildiğini ve elimine edildiğini tam olarak anlamak önemlidir. Polifenollerin metabolizasyonu, hepsinde ortak olan bir dizi reaksiyon yoluyla gerçekleşir. Bu, hidrofilitikliklerini artırarak ve üriner veya biliyer eliminasyonu kolaylaştırarak potansiyel sitotoksik etkilerini azaltmak için bir metabolik detoksikasyona benzemektedir (Manach ve ark., 2004). Plazmada dolaşan metabolitlerin absorpsiyon hızının ve miktarının belirlenmesinde konsantrasyondan ziyade polifenollerin kimyasal yapısı rol almaktadır. Flavan-3-ol'ler ve prosiyanidinler, tükürük ve mide sularına maruz

kaldıklarında nispeten stabildir, bu nedenle biyoyararlanımları artmaktadır. Yapısal karmaşıklık ve polimerizasyon derecelerine bağlı olarak, bu bileşikler ince bağırsakta kolayca emilebilir (monomerik ve dimerik yapılar gibi düşük moleküler ağırlıklı polifenoller) veya hemen hemen hiç değişmeden kolona gelmektedir (oligomerik ve polimerik polifenoller) (Monagas ve ark., 2010). Toplam polifenol alımının sadece %5-10'unun ince bağırsakta emilebileceği tahmin edilmektedir. İnce bağırsaktan emilenler epiteli geçtikten sonra, kateşin ve epikateşin gibi flavan-3-oller, faz II enzimleri (UGT'ler; üridin 5' difosfat glukuronosiltransferazlar ve metiltransferazlar) tarafından metabolize edilir ve glukuronid veya metil türevlerine dönüştürülmektedir. Enterositlerde metabolize edildikten sonra, bu birimler karaciğerdeki hepatositler tarafından sırasıyla katekol-O-metiltransferaz ve sülfotransferazlar tarafından metil türevlerine veya sülfat konjugatlarına metabolize edilebilmekte veya safra yoluyla dışkı ve idrar yoluyla atılabilmektedir (Manach ve ark., 2004). Ayrıca, karaciğer ile reaksiyona girdikten sonra bu metabolitler, eğer atılmazlarsa sistemik dolaşıma taşınabilmektedirler. Bu metabolitlerin bir kısmı safra yoluyla duodenuma girmekte ve daha sonra kalın bağırsakta bakteriyel enzimler (esas olarak  $\beta$ -glukuronidaz) tarafından hidrolize edilmektedir. Bu enterohepatik geri dönüşüm, vücutta daha uzun süre polifenol varlığına yol açabilmektedir. Bununla birlikte, ince bağırsaklarda metabolize edilmeyen daha büyük polifenoller (toplam polifenol alımının %90-95'i) ve safra yoluyla bağırsak lümenine atılan konjugatlar birlikte *Fermicutes* ve *Bacteroidetes* bakterileri gibi kalın bağırsak mikrobiyal topluluğunun enzimatik aktivitelerine maruz kalmaktadırlar. Bu prosiyanidinler daha küçük prosiyanidinlere (monomerik flavan-3-ol birimleri), fenolik asitlere ve  $\gamma$ -valerolaktonlara ayrılmaktadır. İnce bağırsaklarda olduğu gibi, kolonun bağırsak lümeninde bulunan metabolitler, kolonositler tarafından emilerek portal venle karaciğere taşınmaktadırlar. Karaciğerde bir kez, bu metabolitler daha önce bahsedilen yollar aracılığıyla ve sistemik dolaşıma taşınabilmekte veya idrar ve dışkı ile atılabilmektedirler (Sánchez-Patán ve ark., 2012; Selma, Espin, & Tomás-Barberán, 2009). Plazmada yüksek polifenol konsantrasyonunun korunması için belirli bir zaman içinde tekrardan alınması gerekmektedir ve plazmada maksimum konsantrasyonlarına genellikle alımdan 1-2 saat sonra ulaşmaktadırlar (Manach ve ark., 2004). Birkaç çalışmada ise prosiyanidinler, kuersetin ve flavanoller gibi

polifenoliklerin hızlı bir şekilde emildiğini ve alımdan iki veya üç saat sonra plazma konsantrasyonlarının zirve yaptığını göstermiştir (Xia ve ark., 2010).

Flavonoidler, yapılan çalışmada özellikle sindirim sürecinden sonra sütün varlığından güçlü bir şekilde etkilenmiştir (Cilla, Gonzalez-Sarrias, Tomas-Barberan, Espin, & Barbera, 2009). Üzüm çekirdeği ekstraktlarından elde edilen prosiyanidinler, daha yüksek polimerizasyon derecesine bağlı olarak süt proteini ile güçlü bir şekilde birleşmektedirler. Protein-tanen gibi sindirim sistemi boyunca çözünmeyen kompleksler oluşturabilirler (Xia ve ark., 2010). Bununla birlikte, düşük molekül ağırlıklı fenolikler ve protein komplekslerinin durumu belirsizdir.

Üzüm posasında bulunan ekstrakte edilemeyen polifenollerin kanatlılarda sindirilebilirliği üzerine spektrofotometrik tekniklerin kullanıldığı çalışmalar yapılmıştır. Hidrolize olabilen polifenollerin ileal ve fekal sindirilebilirliği sırasıyla sırasıyla %56 ve %73 olduğu görülmüştür (Brenes ve ark., 2008). Üzüm yan ürünlerinde bulunan farklı polifenolik bileşiklerin tanımlanmasını ve incelenmesini sağlayan HPLC-MS teknikleri, son zamanlarda ekstrakte edilebilir polifenollerin kanatlılarda hem ileal, hem de fekal olarak yüksek oranda sindirilebilir olduğunu göstermek için kullanılmıştır. Sonuçlar bu bileşiklerin sindirilebilirliklerinin monomerlerde (kateşin ve epikateşin), dimerlere (B1 ve B2 prosiyanidinler) göre daha fazla olduğunu göstermiştir. Ayrıca serbest bileşiklerin, gallik asitle esterleşenlerden daha fazla sindirilebildiği belirtilmiştir (Brenes ve ark., 2016). İnsanlarda yapılan çalışmada kırmızı şarap tüketimi plazma seviyelerinde özellikle kateşin ve epikateşinin başlıca glukuronidler ve metil glukuronidleri olmak üzere metabolitlerin tespit edildiğini göstermektedir (Tsanga ve ark., 2005). Fakat başka çalışmada üzüm çekirdeği ekstraktı verildikten sonra dimer ve trimer plazma düzeylerinin epikateşin ve kateşinden daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Serra ve ark., 2009). Ayrıca polifenollerin ısıyla muamele edilmesi ve hücre duvarını hidrolize eden enzimlerin kullanılması polifenollerin daha karmaşık polimerik yapılarının hidrolize ederek polifenollerin sindirilebilirliğini arttırmıştır (Chamorro, Goñi, Viveros, Hervert-Hernández, & Brenes 2012a; Chamorro ve ark., 2015).



### 2.3.5. Üzüm Çekirdeği Polifenollerinin Antioksidan Aktivitesi

Çeşitli üzümlerden veya üzümün farklı kısımlarından ekstrakte edilen fenolik bileşiklerin antioksidan kapasitelerini değerlendirmek için 1,1-difenil-2-pikrihidrazil (DPPH) yöntemi, oksijen radikali absorpsiyon kapasitesi (ORAK) tahlili gibi birkaç yöntem kullanılmıştır (Brand-Williams, Cuvelier, & Berset, 1995; Prior ve ark., 2003). Meyve suyu ve şarap ve hatta üzümde elde edilen prininin bile yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu görülmüştür. En yüksek antioksidan kapasite üzüm çekirdeğinde bulunurken, ikinci olarak kabuk, en düşük ise üzümün sulu kısmı olan gövdesinde bulunmuştur (Pastrana-Bonilla ve ark., 2003).

Yüksek derecelerde polimerizasyona sahip prosiyanidin polimerlerinin daha yüksek antioksidan aktivitelere sahip olduğunu gösterilmiştir. Yapılan çalışmada çeşitli fenoliklerdeki en güçlü antioksidan bileşiğin prosiyanidin dimer olduğunu ve antioksidan kapasitedeki düşüşün sırasıyla prosiyanidin dimer, flavanol, flavonol, hidroksisinnamik asitler ve basit fenolik asitler olduğu gösterilmiştir (Soobrattee, Neergheen, Luximon-Ramma, Aruoma, & Bahorun, 2005). Difenoller, hidrojen bağı yoluyla fenoksi-radikalin stabilizasyonu nedeniyle basit fenollerden daha etkili bir antioksidandır. Yüksek molekül ağırlıklı bileşikler, fenolik bileşiklerde yüksek antioksidan potansiyeli gösterilmiş monomer flavanol olan kateşin kadar önemli olabilmektedir (Xia ve ark., 2010). Yapılan başka bir çalışmada ise çözücülerin kateşin, resveratrol ve üzüm ekstraktlarının antioksidan aktivitesi üzerindeki etkileri incelenmiş olup, maksimum antiradikal aktivite etanolde, ardından metanolde ve en az su kullanıldığında bulunmuştur (Pinelo, Rubilar, Sineiro, & Nunez, 2005).

Fenolik bileşiklerin antioksidan kapasitesi için kimyasal fonksiyonel yapı hidroksil gruplarıdır (OH). Polifenollerin antioksidan özellikleri, temel olarak, lipidlerin ve diğer biyomoleküllerin serbest radikal oksidasyonunu sonlandırmak için aromatik halka boyunca yerleştirilmiş hidroksil gruplarından hidrojeni bağlama kabiliyetlerinden kaynaklanmaktadır (Foti, Piatelli, Amico, & Ruberto, 1994). Hidroksil grubunun sayısı ve molekül halkası üzerindeki konumu flavonollerin antioksidan kapasitesini belirlemektedir (Arora, Nair, & Strasburg, 1998). Üzüm çekirdeği ekstraktındaki bu fenolik bileşikler, esas olarak hidrojen peroksit, hidroksil radikali, süperoksiti süpürerek ve demiri şelatlayarak oksidan oluşumunu

engellemektedirler. Buna bağlı lipid peroksidasyonunun inhibisyonu, antioksidan enzim seviyelerinin aktivitelerinde artma şekillenmektedir (El-Damrawy, 2014).

Üzüm çekirdeği ekstraktının sıcak stresi ve diğer patolojik nedenlerden kaynaklanan oksidatif stresin etkilerini azalttığı son yıllarda farklı hayvan türlerinde gerçekleştirilen araştırmalar ile gösterilmiştir (Brenes ve ark., 2010; El-Damrawy, 2014; Hassan ve ark., 2016; Kappagoda ve ark., 2015; Katiyar, 2015; Wang ve ark., 2008). Sıcak stresi altındaki tavşanlarda yapılan çalışmada üzüm çekirdeği ekstraktının büyüme performansını arttırdığı, antioksidan durumu iyileştirdiği ve ölüm oranını azalttığı belirtilmiştir. Yine aynı çalışmada plazma süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz antioksidan enzim seviyelerinin ve total antioksidan kapasitenin arttığı, malondialdehitin ise azaldığı görölmüştür (Hassan ve ark., 2016). Sıcak stresinde broiler piliçlerde yapılan çalışmada üzüm çekirdeği ekstraktı kullanımının lipid peroksidasyonunu ve antioksidan enzimlerin aktivitesi üzerindeki olumsuz etkileri azalttığı görölmüştür (El-Damrawy, 2014).

### **2.3.6. Üzüm Çekirdeği Polifenollerinin İnflamasyon Üzerine Etkisi**

Prosiyanidinlerin antiinflamasyon mekanizması araştırılmış ve sonuçlar proinflamasyon faktörlerinin salınımını engelleyebileceğini göstermiştir. Bağışıklık modölyasyonu ve antioksidan etki, üzüm fenoliklerinin anti-enflamasyon etkisi için ana yollardır (Xia ve ark., 2010). Oksidatif streste reaktif oksijen türleri tarafından aktive edilen nükleer faktör kapp B (NF-κB), insülin direncine katkıda bulunabilecek sitokinler ve kemokinler dahil proinflamatuvar moleküllerin üretimine yol açmaktadır (Sarada ve ark., 2008). Polifenoller, bağışsak ROT'ini temizleyerek metabolik sağlık üzerinde yararlı etkilerini gösterebilmektedirler (Kuhn ve ark., 2018). Üzüm çekirdeği ekstraktı polifenollerini hücre içi ve mitokondriyal ROT'ni azaltarak ve lipopolisakkaritlerin meydana getirdiği mitokondriyal membran hasarını azaltmaktadır. Üzüm çekirdeği ekstraktının, sıkı bağlantı proteinlerinin ekspresyonlarını arttırarak bağışsak duvarının geçirgenliğini azaltmakta ve bağışsak bariyer fonksiyonunu iyileştirmektedir. Oksidatif stres sıklıkla inflamatuvar yanıtla ilişkili olduğundan, yapılan bir çalışmada üzüm çekirdeği ekstraktının lipopolisakkarit ile indüklenen Caco-2 hücrelerinde anti-inflamatuvar etkisi incelenmiştir. Üzüm çekirdeği ekstraktının, IL8 ve IL6 salgılanmasını önemli ölçüde

azalttığı pro-inflamatuar sitokinler olan IL1a, IL6 ve TNFa'nın gen ekspresyonunu azalttığı belirtilmiştir (Nallathambi, Poulev, Zuk, & Raskin, 2020). Sitokin gen ekspresyonlarının inhibisyonu veya azaltılması, üzüm çekirdeği polifenollerinin anti-inflamatuar etkisinin ana yollarını oluşturabilir. Terra ve ark. (2009) üzüm çekirdeği prosiyanidinlerinin, yüksek yağlı yemle yiyen sıçan plazmalarında C-reaksiyon proteinlerinin artışını inhibe ettiğini ve mezenterik beyaz yağ dokusunda IL-6 ve TNF- $\alpha$ 'yı azalttığını göstermişlerdir. Yine başka bir oksidatif hasara bağlı çalışmada da üzüm çekirdeği ekstraktı kullanımının plazma TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  miltarını azalttığı belirtilmiştir (Çakır ve ark., 2016).

### **2.3.7. Üzüm Çekirdeği Polifenollerinin Karbonhidrat ve Lipid Metabolizmasına Etkisi**

Daha önce belirtildiği gibi, karbonhidrat ve lipid metabolizması, sığırlarda sıcak stresi dönemlerinde büyük ölçüde değişmektedir. Üzüm çekirdeği ekstraktının karbonhidrat ve lipid metabolizmasını iyileştirdiği de gösterilmiştir. Karbonhidrat metabolizmasında üzüm çekirdeği ekstraktlarının, insüline benzer özelliklere sahip olduğu, glikoz metabolizmasının iyileştirildiği gösterilmiştir. In vitro 3T3-L1 hücre kültürlerinde yapılan çalışmada, üzüm çekirdeği ekstraktı insüline duyarlı hücre dizilerinde alımı uyarmıştır (Montagut ve ark., 2010). Yapılan başka bir çalışmada yüksek karbonhidrat içeren yiyecekten sonra ve 100 veya 300 mg/kg canlı ağırlık dozunda üzüm çekirdeği ekstraktı verilmesinin, önemli ölçüde glikoz seviyesini düşürdüğü görülmüştür (Smithson, 2016). Bu çalışmalar, üzüm çekirdeği ekstraktının glikoz alımını artırma yeteneğini göstermektedir, ancak bunun yöntemleri tam olarak anlaşılammıştır. Üzüm çekirdeği ekstraktının insülin benzeri etkisini açıklayabilecek birkaç mekanizma vardır. Birincisi, PI3K ve p38 MAPK insülin sinyal yollarından geçmektedir. İnsüline dirençli hücrelerde üzüm çekirdeği ekstraktı, insülin reseptörlerini aktive etme yeteneğine sahip olabilir (Montagut ve ark., 2010). İnsüline dirençli hücrelerde üzüm çekirdeği ekstraktı GLUT-4'ün hücre zarına translokasyonunu da teşvik ederek glukoz alımını teşvik etmektedir (Montagut ve ark., 2010). Üzüm çekirdeği ekstraktının, gastrointestinal kanalda glukoz metabolizmasında önemli bir rol oynayan  $\alpha$  glukozidaz ve pankreatik  $\alpha$ -amilaz enzimlerinin güçlü bir inhibitörü olduğu gösterilmiştir (Suwannaphet, Meeprom,

Yibchok-Anun, & Adisakwattana, 2010). Bu enzimleri inhibe ederek, kompleks karbonhidratların tek glikoz birimlerine parçalanması ve emilimi yavaşlamakta, dolayısıyla kan glikoz seviyesi düşmektedir (Pinent ve ark., 2004).

Düşük yoğunluklu lipoproteinlerin (LDL) oksidasyonu, stresli koşullarda hipertrigliseridemi ve hiperkolesterolemi gibi lipid anormalliklerinin birincil mekanizmalarından biridir (El-Damrawy, 2014). Fenolik bileşiklerin plazma lipid düzeylerini önemli ölçüde iyileştirmektedir. Sıcak stresi altında yapılan çalışmalarda Üzüm çekirdeği ekstraktı kullanımı toplam plazma kolesterolü, trigliserit ve LDL düzeylerini düşürmüştür (El-Damrawy, 2014; Hassan ve ark., 2016). Total kolesteroldeki bu düşüşün nedeni üzüm çekirdeği ekstraktının glikodeoksikolik aside karşı güçlü bağlanma kapasitesini sergilemesi, buna karşın taurokolik asit ve taurodeoksikolik aside hafifçe bağlanması nedeniyle olabileceği ifade edilmiştir. Ayrıca üzüm çekirdeği ekstraktındaki fenolik bileşiklerin LDL'nin oksidasyonunu engellemede çok etkili olduğu gösterilmiştir (Teissedre, & Waterhouse, 2000).

### **2.3.8. Üzüm Çekirdeği Polifenollerinin Serum Karaciğer Enzimleri Etkileri**

Üzüm çekirdeği ekstraktı, yaralanmanın neden olduğu ALT, AST ve histolojik değişiklikleri tersine çevirebilmektedir. Üzüm çekirdeği ekstraktı, oksidatif stresin meydana geldiği safra kanalı ligasyonu ile indüklenen hepatik fibrozise karşı yükselen ALT ve AST'yi azalttığı görülmüştür (Dulundu ve ark., 2007). Sehirli ve ark. (2008) hepatik iskemi/reperfüzyon hasarı üzerindeki olası koruyucu etkisini belirlemek için üzüm çekirdeği ekstraktı için kullanmışlardır. Ortaya çıkan oksidatif hasara bağlı artan ALT, AST ve LDH enzimlerinin üzüm çekirdeği ekstraktı kullanılmasıyla azaldığını belirtmişlerdir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Tez çalışmasının hayvan denemeleri başlamadan önce çalışma protokolü Bursa Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (UÜHADYEK) tarafından incelenmiştir. Kurulun 28.01.2020 tarihli ve B.30.2.ULU.0.8Z.00.00/07 sayılı toplantısında çalışmanın gerçekleştirilmesinin uygun olduğuna karar verilmiştir (Karar no: 2020-02/01).

#### 3.1. Deneme yeri

Tez çalışmasının hayvan denemeleri aşaması 1 Temmuz-15 Eylül 2020 tarihleri arasında işletme kayıt numarası TR16298432 ve TR16301826 olan İtimat Peynircilik Süt ve Süt Ürünleri İmalat Pazarlama Sanayi Ticaret A.Ş. Demirboğa Çiftliği'nde (Yenişehir/Bursa) bulunan buzağı ünitesinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın yapıldığı çiftliğe ait coğrafi koordinatlar  $40^{\circ} 17' 38''$  doğu boylamı,  $29^{\circ} 35' 56''$  kuzey enlemidir.

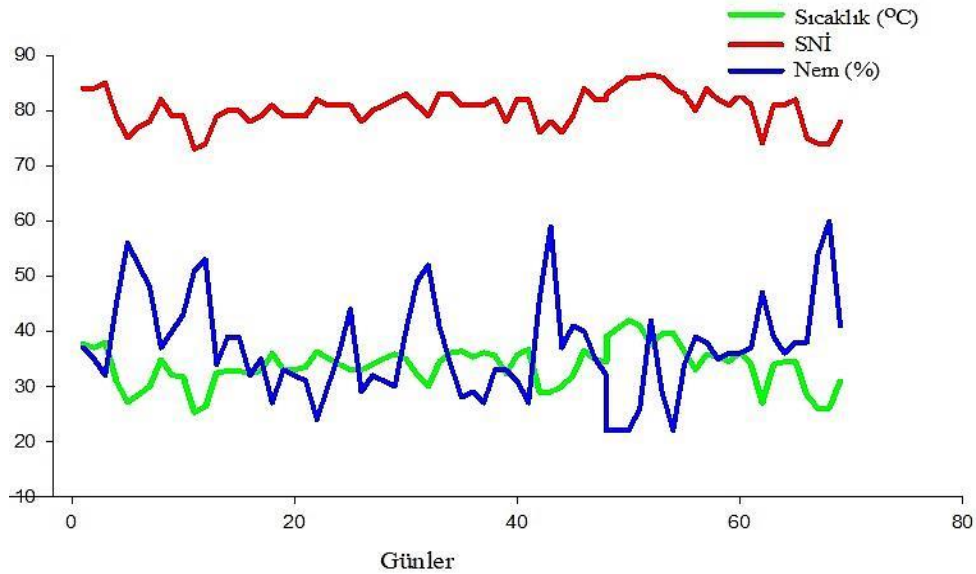


Şekil 15. Buzağı ünitesinin genel görünümü

### 3.2. Sıcaklık ve Nem Ölçümleri

Çalışma buzağuların sıcak stresine maruz kaldığı koşullarda sıcaklık-nem indeksi (SNİ) değeri göz önüne alınarak yapılmıştır. Çalışmada kulübeğe yerleştirilen dijital termometre (Nimomed SH-101 Dijital Termometre, Denizli, Türkiye) kullanılarak günlük olarak buzağı kulübelerinin bulunduğu ortamın ortam sıcaklığı (°C) ve bağıl nem (%N) kaydedilmiştir. Çalışma sırasında ortam sıcaklığı 22-41°C arasında, bağıl nem ise ortalama  $37 \pm 7$  olarak ölçülmüştür. Çalışma 73.2-87.4 SNİ değerleri arasında gerçekleştirilmiştir (Şekil 16). Buzağuların maruz kaldığı sıcak stresi düzeyi ise günlük olarak aşağıda belirtilen formüle göre belirlenmiştir:

$SNİ = (1.8 \times ^\circ C + 32) - [(0.55 - 0.0055 \times \%N) \times (1.8 \times ^\circ C - 26)]$  (Kendall ve ark., 2008; Vickers ve ark., 2010).



**Şekil 16.** Çalışma boyunca Yenişehir/Bursa'daki günlük ortalama çevre sıcaklığı (°C), bağıl nem (%) ve sıcaklık-nem indeksi (SNİ) değerleri.

### 3.3. Deneme Hayvanlarının Bakım Beslenmesi ve Grupların Oluşturulması

Çalışmanın hayvan denemesinde yeni doğan toplam 60 adet Holstein ırkı dişi buzağı kullanılmıştır. Buzağular doğumu takiben ilk yarım saat içerisinde 37°C sıcaklığında 2.5 litre kolostrum içirildikten sonra annelerinin yanından ayrılıp toplu

padoğa alınmalarının ardından 6 ve 12 saat sonra buzağılara 2X2.5 litre daha kolostrum içirilmiştir. İki ve 3. günlerde buzağılara günde 2 kez 2.5 litre kolostrum verildikten sonra 3. günde bireysel beyaz fiberglas buzağı kulübelerine (1.65 x 1.20 m) alınmışlardır. Her grupta 15 hayvan olacak şekilde toplam 4 grup (15X4) oluşturulmuştur. Doğum ağırlığının yanısıra renklerin ısıyı absorbe etmesinden dolayı kıl rengine göre de gruplandırmanın homojen olmasına dikkat edilmiştir. Üzüm çekirdeği ekstraktı ise 4. günden itibaren her sabah buzağuların sütünün içine canlı ağırlık dozunda ilave edilmiştir. Kontrol grubu (KON) olarak kullanılan hayvanlara hiçbir uygulama yapılmamışken, diğer 3 deneme grubundaki buzağılara ise her gün sırasıyla 25 mg/kg (ÜÇE1), 50 mg/kg (ÜÇE2), 100 mg/kg (ÜÇE3) mg/kg canlı ağırlık dozuna göre oral yolla üzüm çekirdeği ekstraktı içirilmiş ve uygulama 63. gün buzağular süttten kesilene kadar devam etmiştir. Deneme grupları aşağıda belirtildiği gibi oluşturulmuştur.

- 1- **KON (15 hayvan):** Kontrol
- 2- **ÜÇE1 (15 hayvan):** Günlük 25 mg/kg canlı ağırlık dozunda oral yolla üzüm çekirdeği ekstraktı
- 3- **ÜÇE2 (15 hayvan):** Günlük 50 mg/kg canlı ağırlık dozunda oral yolla üzüm çekirdeği ekstraktı
- 4- **ÜÇE3 (15 hayvan):** Günlük 100 mg/kg canlı ağırlık dozunda oral yolla üzüm çekirdeği ekstraktı

(Daha önce buzağılarda üzüm çekirdeği ekstraktı kullanılmadığı için dozların belirlenmesinde diğer canlı türlerinden yararlanılmıştır (Hajati ve ark., 2018; Safaei ve ark., 2017; Satyam ve ark., 2013). Buna göre canlı ağırlıklar göz önünde bulundurularak mevcut dozlar ortaya çıkmıştır. Buzağılara 4-55. günler arasında 3x2 litre, 56-60. günler arasında 2X2 litre ve 61-63. günler arasında 2 litre inek sütü verildikten sonra buzağular 63. günde süttten kesilmişlerdir. Kulübelerde altlık olarak saman kullanılmış ve her 3 günde bir temizlenerek altlık değiştirilmiştir.

Doğumu takiben 7. günden itibaren buzağular süttten kesilene kadar her sabah saat 09:00'da buzağı başlangıç yemi (%93) ve yonca kuru otu (%7) karıştırılıp 1 gram hassasiyete sahip terazi (Seles, APTC417, Shenzhen, China) ile tartılarak buzağı TMR'si şeklinde bireysel olarak hayvanların tüketimine sunulmuştur (Şekil 17). Buzağuların beslenmesinde kullanılan yonca kuru otu Bursa-Yenişehir

bölgesinden temin edilmiş ve hayvanların tüketimine sunulmadan önce 3-5 cm uzunluğunda kıyılmıştır. Su ise doğumla beraber *ad libitum* olarak buzağuların önünde hazır bulundurulmuştur. Buzağı başlangıç yemi pelet formda özel bir yem fabrikasından temin edilmiştir (Tablo 4).



Şekil 17. Buzağı TMR'sinin hazırlanması

### 3.4. Denemede Kullanılan Yemlerinin Analizleri

Deneme boyunca her gün buzağulara verilen sütün kimyasal içeriği FOSS MilkoScan™ FT1 (FOSS, Denmark) cihazıyla ölçülmüş olup sütün kimyasal içerik ortalaması tablo 3'te gösterilmiştir.

**Tablo 3.** Sütün Kimyasal Bileşimi

Bileşenler	Değerler
Kuru madde, (%)	12,47 ±0,28
Yağ, (%)	3,60 ±0,09
Protein, (%)	3,09 ±0,05
Laktoz, (%)	4,71 ±0,1
Süt Üre Nitrojeni, (mg/dl)	14,27 ±0,72



Çalışmada kullanılan buzağı başlangıç yemi etüvde (Elektro-mag, M5040P, İstanbul, Türkiye) 105°C’de 16 saat ve yonca kuru otu hava üflemeli etüvde (WTB BINDER, Germany) 55°C’de 72 saat kurutulmuştur. Kuru madde ölçümleri yapıldıktan sonra yem numuneleri 1 mm elek çapında (3303 Mill, Hundange-Sweden) öğütülmüştür. Buzağı başlangıç yemi ve yonca kuru otundan ham protein, ham yağ, ham selüloz, ham kül, fosfor ve kalsiyum analizleri AOAC’de (1990) belirtilen yöntemler; nötral deterjan fiber (NDF), asit deterjan fiber (ADF) ve asit deterjan lignin (ADL) analizleri ise Van Soest ve ark., (1991)’nın belirttiği metot kullanılarak yapılmıştır. Çalışmada kullanılan yemlerin hammadde bileşimi ve besin maddesi içerikleri tablo 4 ve 5’te gösterilmiştir.

**Tablo 4.** Buzağı Başlangıç Yeminin Hammadde Bileşimi<sup>1</sup>

Yem Hammaddeleri	Değer (%)
Arpa	21,40
Soya Fasulyesi Küşpesi (%46 Ham Protein)	19,81
Mısır	26,71
Bonkalit	26,29
Şeker Pancarı Melası	3,31
Mermer Tozu (Kalsiyum Karbonat)	1,96
Tuz (Sodyum Klorür)	0,33
Vitamin-Mineral Premiksi <sup>2</sup>	0,15

<sup>1</sup>: Yem hammaddelerinin bileşimi doğal halde verilmiştir.

<sup>2</sup>: 20000000 IU/kg vitamin A, 3000000 IU/kg vitamin D, 25000 mg/kg E vitamini, 4000 mg/kg B1 vitamini, 8000/kg mg B2 vitamini, 5000 mg/kg B6 vitamini, 20 mg/kg B12 vitamini, 20000 mg/kg niasin, 200000 mg/kg kolin klorür, 50000 mg /kg Mangan, 50000 mg/kg Demir, 50000 mg/kg Çinko, 10000 mg/kg Bakır, 800 mg/kg İyot, 150 mg/kg Kobalt, 150 mg/kg Selenyum içermektedir.

**Tablo 5.** Buzağı Başlangıç Yemi ve Yonca Kuru Otonun Besin Maddesi İçerikleri<sup>1</sup>

Besin Maddeleri	Buzağı Başlangıç Yemi	Yonca Kuru Out
Kuru Madde, (%)	88,71	93,26
Ham Protein, (%)	19,95	17,45
Ham Selüloz ,(%)	5,63	28,01
Ham Yağ ,(%)	2,48	1,83
Ham Kül, (%)	6,76	10,37
Nişasta, (%)	28,16	3,67
NDF <sup>2</sup> , (%)	21,16	52,40
ADF <sup>3</sup> , (%)	8,45	39,18
ADL <sup>4</sup> ,(%)	2,05	13,62
şeker, (%)	7,28	-
Kalsiyum, (%)	1,03	1,38
Fosfor, (%)	0,73	0,25
TDN <sup>5</sup> , (%)	86,51	61,75

<sup>1</sup>:Besin maddeleri kuru madde esasına göre verilmiştir.

<sup>2</sup>:Nötral deterjan fiber

<sup>3</sup>: Asit deterjan fiber

<sup>4</sup>: Asit deterjan lignin

<sup>5</sup>:Toplam Sindirilebilir Besin Maddesi

### 3.5. Kuru Madde Tüketiminin Belirlenmesi

Bireysel olarak buzağıların kulak numarasının yazıldığı kovalara buzağı başlangıç yemi ve yonca kuru otundan oluşan TMR tartılarak her gün kayıt altına alınmıştır. Bir sonraki gün buzağıların tüketiminden kalan yem toplanıp tartılarak günlük tüketilen TMR miktarı hesaplanmıştır. Hayvanların günlük kuru madde tüketimi ise; günlük tüketilen buzağı başlangıç yemi ve yonca kuru otu karışımı ile tükettiği süt miktarının kuru maddesi baz alınarak hesaplanmıştır.

### 3.6. Canlı Ağrlık Artışının Belirlenmesi

Buzağılar üzüm çekirdeği ekstraktının verilmeye başlanmasıyla beraber 15'er gün arayla olmak üzere 3, 18, 33, 48 ve 63. günlerde işletmede bulunan 100 gram hassasiyete sahip kantar (Uzay Baskül-HK2000, Bandırma, Balıkesir, Türkiye) vasıtasıyla tek tek tartılarak, canlı ağırlık artışları belirlenmiştir. Tartımlar arası farktan canlı ağırlık artışları hesaplanmış ve sütün kesim ağırlıkları en son yapılan tartıma göre (63.gün) belirlenmiştir. Günlük canlı ağırlık artışı (GCAA) ise birbirini izleyen iki tartım arasındaki farkın geçen gün sayısına bölünmesi suretiyle hesaplanmıştır. Bu amaçla aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$\text{GCAA (kg/gün)} = \frac{\text{Son tartım (kg)} - \text{ilk tartım (kg)}}{\text{Tartımlar arasında geç gün sayısı}}$$

### **3.7. Yemden Yararlanma Oranının Belirlenmesi**

Buzağuların bireysel olarak yemden yararlanma oranları (YYO) ise günlük canlı ağırlık artışı ve kuru madde tüketim değerleri kullanılarak hesaplanmıştır. Günlük canlı ağırlık artışı değerinin, ortalama günlük kuru madde tüketimine bölünmesi ile yemden yararlanma oranı hesaplanmıştır. Bu amaçla aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$\text{YYO} = \frac{\text{GCAA (kg/gün)}}{\text{KMT (kg/gün)}}$$

### **3.8. Sıcak Stresi Altındaki Buzağılarda Fizyolojik Parametrelerin Değerlendirilmesi**

Çalışma süresi boyunca, sıcak stresinin en şiddetli olduğu 14:00 ile 15:30 saatleri arasında haftada üç gün elektronik termometre (Kruuse su geçirmez dijital termometre, Model:291103, Langeskov, Danimarka) ile buzağuların rektal sıcaklıkları ölçülmüştür. Hemen ardından abdominal kas hareketleri 1 dakika boyunca izlenerek solunum sayıları belirlenmiştir (Spain, & Spiers, 1996).

### 3.9. Fekal Örneklerin Alınması ve Fekal Uçucu Yağ Asidi Analizi

Uçucu yağ asidi analizi değerlendirilmesi için fekal örnekler doğumu takiben 33. ve 63. günlerde sabah beslemesinden 4 saat sonra her buzağıdan steril muayene eldiveni ve steril dışkı kabı kullanılarak rektal tuşe ile alınmıştır. Alınan fekal örnekler vakit geçirilmeden soğuk zincir altında Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvarı'na getirilmiştir.

Alınan steril numunelerden 2.0 g taze dışkı örnekleri plastik tüplere koyularak 2 ml %25'lik metafosforik asit ile muamele edildikten sonra üzerine 6 ml distile su ile seyreltilmiştir (Flickinger, Van Loo, & Fahey, 2003). Elde edilen karışım 20 dakika (Eba-21, Hettich GmbH & Co.KG, Tuttlingen, Germany) 25.000 x g'de santrifüje edilmiştir. Elde edilen süpernatantlar analiz edilene kadar -20°C'de dondurularak saklanmıştır. Analizden önce süpernatantlar çözülünceye kadar oda sıcaklığında bekletilmiştir. Çözülen süpernatantlar 13.000 x g'de 10 dakika santrifüje edilerek 1 ml alınıp viallere konularak gaz kromatografi cihazına (Hewlett Packard Agilent Technologies 6890N Network GC System, Serial CN10447002, Beijing, China) yerleştirilmiştir. Bilgisayar ortamında pikler ile asetat, propiyonat, bütirat ve toplam UYA (asetat + propiyonat + bütirat) konsantrasyonları belirlenmiştir (Şekil 18). Gaz kromatografi cihazı ve kolonun özellikleri aşağıda belirtilmiştir:

Model : Hewlett Packard Agilent Technologies 6890N (Çin)

Paketleme : 10% SP-1200/1% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> on 80/100 Chromosorb Supelco Inc., ABD

Detektör Sıcaklığı : FID, 175 C°

Kolon Sıcaklığı : 130 C°

Taşıyıcı Gaz : Helyum, 40ml/dk

Kolon Özellikleri : 6' x 2 mm ID cam kolon (Supelco, belefonte, PA)



Şekil 18. Gaz kromatografi cihazıyla fekal uçucu yağ konsantrasyonlarının belirlenmesi.

### 3.10. Kan Örneklerinin Alınması

Kan örnekleri doğumu takiben, 3, 33, ve 63. günlerde sıcak stresinin yoğun olduğu 14:00-15:30 saatleri arasında plazma ve serum örnekleri için *vena jugularis* damarından, antikoagulan içeren (EDTA% 10) ve içermeyen iki ayrı vakum tüpüne alınmıştır (9 ml'lik). Alınan kan numuneleri soğuk zincir altında Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvarı'na getirilmiştir. Antikoagulan içermeyen tüplerden toplanan örnekler, serumu ayırmak için 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilip, (M4812, Elektro-mag, İstanbul, Türkiye) çıkan serumlar 2 ml'lik ependorf tüplerine ayrılarak, analizlerin gerçekleştirileceği güne kadar -80°C'de (Thermo Fisher Scientific LLC, 88400V, United States) depolanmıştır.

### 3.11. Hemogram (Tam Kan Sayımı) Analizinin Yapılması

Antikoagulan içeren tüplerden toplanan örneklerden ise önce otomatik tam kan sayım cihazıyla (Mindray BC 5000 Vet, Shenzhen, China) total lökosit (WBC), nötrofil, lenfosit, monosit, eozinofil, bazofil, kırmızı kan hücreleri (RBC), hemoglobün (HGB), hematokrit yüzdesi (HCT), MCV, MCH, MCHC, trombosit ve MPV analizleri gerçekleştirilmiştir. Hemogram değerleri bakıldıktan sonra kalan örnekler 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek çıkan plazmalar 2ml'lik ependorf

tüplerine ayrılarak analizlerin gerçekleştirileceği tarihe kadar -80°C'de (Thermo Fisher Scientific LLC, 88400V, United States) depolanmıştır.

### **3.12. Kan Serumundan Biyokimyasal Parametrelerin Ölçülmesi**

Dondurulan kan serumları oda sıcaklığında çözündürüldükten sonra serum biyokimyasal parametreler olan NEFA (FA115, Randox Laboratories®, Crumlin, United Kingdom), glikoz (REF GL3815 Biolabo SA®, Fransa), ALT (REF AL3801, Biolabo SA®, Fransa) ve AST (REF AS3804, Biolabo SA®, Fransa) değerleri belirtilen ticari kitler kullanılarak biyokimya otoanalizatörüyle (RX imola, Randox Laboratories Ltd, Crumlin, United Kingdom) ölçülmüştür.

### **3.13. Kan Plazmasından Antioksidan Parametrelerin Ölçülmesi**

Derin dondurucuda saklanan plazma örnekleri oda sıcaklığında çözündürülmüştür. Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda bulunan ELİSA reader (BioTek Instruments, VT 05404-0998, Winooski-USA) yardımı ile antioksidan enzimler olan süperoksit dismutaz (Bovine Super Oxidase Dimutase (SOD) ELISA Kit, SunRed, Katolog no: 201-04-1759), glutatyon peroksidaz (Bovine Glutathione peroxidase (GSH-Px) ELISA Kit, SunRed, Katolog no: 201-04-2085) ve katalaz (Bovine Catalase (CAT) ELISA Kit, SunRed, Katolog no:201-04-2056) konsantrasyonları ticari ELİSA kitleri ile belirlenmiştir. Ayrıca kan plazmasından total antioksidan kapasite (Bovine Total Antioxidant Capacity (TAC) ELISA Kit, SunRed, Katolog no: 201-04-3575) ve lipid peroksidasyonu belirlemek için malondialdehit (Bovine malondialdehyde (MDA) ELISA Kit, SunRed, Katolog no: 201-04-0255) konsantrasyonlarının ölçümü ticari ELİSA kitleri ile gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, üreticinin firmanın talimatlarına göre 450 nm'de okunmuştur.

### **3.14. Kan Plazmasından Sitokin Seviyelerinin Ölçülmesi**

Dondurulan plazma örnekleri oda sıcaklığında çözündürüldükten sonra ELİSA reader (BioTek Instruments, VT 05404-0998, Winooski-USA) yardımı ile TNF- $\alpha$  (Bovine Tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ELISA Kit, SunRed, Katolog no: 201-04-0007), IL-1 $\alpha$  (Bovine Interleukin 1(IL-1) ELISA Kit, SunRed, Katolog no: 201-04-

2361) ve IFN- $\gamma$  (Bovine Interferon  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) ELISA Kit, SunRed, Katolog no: 201-04-0002) sitokinlerinin konsantrasyonları ticari sığır spesifik ELİSA kitleri ile belirlenmiştir.

### **3.15. Kan Plazmasından Akut Faz Proteinleri Düzeyinin Belirlenmesi**

Kan plazmalarından Hsp70 (Bovine Heat Shock Protein 70 (HSP-70) ELISA Kit, SunRed, Katolog no: 201-04-1869) ve haptoglobin (Bovine Haptoglobin (Hpt) ELISA Kit, SunRed, Katolog no: SRB-T-81265) konsantrasyonları belirtilen ticari ELİSA kitleriyle ELİSA reader (BioTek Instruments, VT 05404-0998, Winooski-USA) cihazı kullanılarak tespit edilmiştir.

### **3.16. Kan Plazmasından İnsulin, Kortizol ve Leptin Seviyelerinin Ölçülmesi**

Kan plazmaları çözdürüldükten sonra insulin (Bovine Insulin (Ins) ELISA Kit, SunRed, Katolog no: SRB-T-84678), kortizol (Bovine Cortisol ELISA Kit, SunRed, Katolog no: SRB-T-84957) ve leptin (Bovine Leptin(LEP) ELISA Kit, SunRed, Katolog no: SRB-T-84638) hormonlarının konsantrasyonları ticari ELİSA kitleri kullanılarak ELİSA reader ile (BioTek Instruments, VT 05404-0998, Winooski-USA) belirlenmiştir.

### **3.17. Üzüm Çekirdeği Ekstraktı Eldesi ve Analizi**

Üzüm çekirdeği ekstraktı ticari bir firmadan (Kale Naturel Ltd. Şti. Edremit/Balıkesir) temin edilmiştir. Üzüm çekirdeğinden fenolik ekstraktların eldesi etanol kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hasat edilen üzümde çekirdek kısımları ayrılarak çekirdek örnekleri zaman kaybetmeden yaş olarak öğütücüde öğütülmüştür. Öğütülen çekirdekler %70'lik etil alkol ile karıştırıldıktan sonra inkübatörde 24 saat boyunca çalkalanarak ekstre edilmiştir. Etil alkol rotary evaporatör kullanılarak uzaklaştırılmıştır. Üzüm çekirdeği ekstraktının bileşenleri, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanılarak analiz edilmiştir. Fenolik bileşiklerin analizinde Windows NT tabanlı ChemStation yazılımı tarafından çalıştırılan bir Shimadzu LC-2050 (Japonya) sistemi kullanılmıştır. Bileşiklerin ayrılması Beckman Ultrasphere ODS kolonunda (Roissy, Fransa; 4.6 mm x 250 mm, 5  $\mu$ m) gerçekleştirilmiştir. Mobil faz %5 formik asitli su (çözücü A; v/v) ve %40 (çözücü B; v/v) ile

asetonitrilden oluşmaktadır. Her bileşiğin tanımlanması ve belirlenmesi bileşiklerin alıkonma süreleri ve UV spektrumları standartlarla karşılaştırılarak yapılmıştır (Tablo 6). Elusyon koşulları aşağıdaki gibidir:

Akış hızı: 1ml/dk

Dalga boyu: 280, 320 ve 360 nm

Dedektör tipi: Diod array dedektör

**Tablo 6.** Üzüm Çekirdeği Ekstraktının Fenolik Bileşikleri

Fenolik bileşikler	Zaman (dk)	Ortalama (mg/L) <sup>1</sup>	%	STS <sup>2</sup>
Gallik asit	13,03	124,42	20,66	0,11
Protokateşik asit	20,37	29,69	4,93	0,05
Prosiyanidin dimeri 1	23,64	81,97	13,61	0,10
(E)-Kaftarik asit	23,71	10,71	1,78	0,02
Prosiyanidin dimeri 2	26,07	13,57	2,15	0,08
p-Hidroksibenzoik asit	26,9	10,28	1,70	0,02
Kateşin	28,79	160,55	26,66	0,21
Prosiyanidin dimeri 3	30,28	8,72	1,45	0,03
(E)-Kutarik asit	31,97	9,19	1,58	0,05
Prosiyanidin dimeri 4	33,48	22,47	3,73	0,04
Epikateşin	37,00	63,09	10,50	0,04
Siringik asit	43,81	6,10	1,01	0,03
m-Kumarik asit	45,63	3,44	0,57	0,03
Rutin	47,52	5,18	0,85	0,02
Kaempferol glikozidi	47,82	14,98	2,50	0,03
Kuersetin glikozidi	48,16	5,62	0,93	0,02
Kaempferol	62,83	32,11	6,86	0,01

<sup>1</sup>: 3 analiz ortalaması, <sup>2</sup>: Standart sapma

### 3.18. İstatistiksel Analiz

Tüm veriler önce SAS'ta UNIVARIATE prosedürü kullanılarak dağılımın normalliği için test edilmiştir. Büyüme performansı, serum biyokimyasal parametreler, hemogram değerleri, antioksidan parametreler, sitokinler, akut faz proteinleri, hormonal değerler, fekal uçucu yağ seviyeleri ve sıcak stresi parametrelerinin (solunum sayısı ve rektal sıcaklık) verileri, SAS 9.4'ün PROC GLIMMIX prosedürü (SAS Institute Inc.; Cary, NC, ABD) kullanılarak analiz edilmiştir. Tüm kan parametreleri ve fekal uçucu yağ asidi konsantrasyonları için son model; doz, zaman (tekrarlanan ölçüm) ve doz × zaman etkileşimleri sabit faktörler olarak kabul edilmiştir. Büyüme performansı modelinde ise sabit faktör olarak sadece dozun etkisi değerlendirilmiştir. Diğer yandan solunum sayısı ve rektal



sıcaklık değerleri için; doz, SNİ ve doz  $\times$  SNİ etkileşimleri sabit faktörler olarak analiz edilmiştir. Bireysel farklılıkları değerlendirmek için tüm modellerde rastgele etki olarak bireysel buzağılar kullanılmıştır.  $P < 0,05$  olan farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.  $0,05 < P \leq 0,10$  arasındaki farklar ise istatistiksel bir eğilim olarak kabul edilmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Büyüme Performansı ve Yem Tüketimi

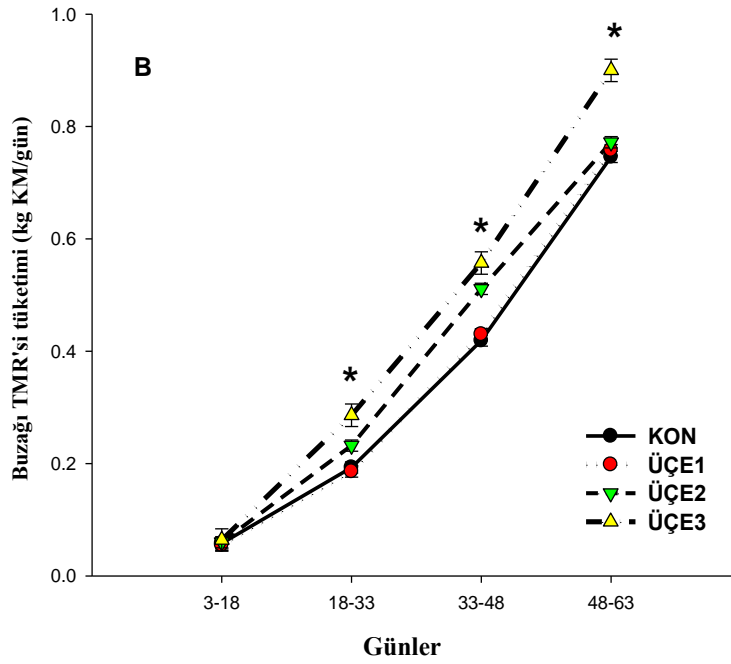
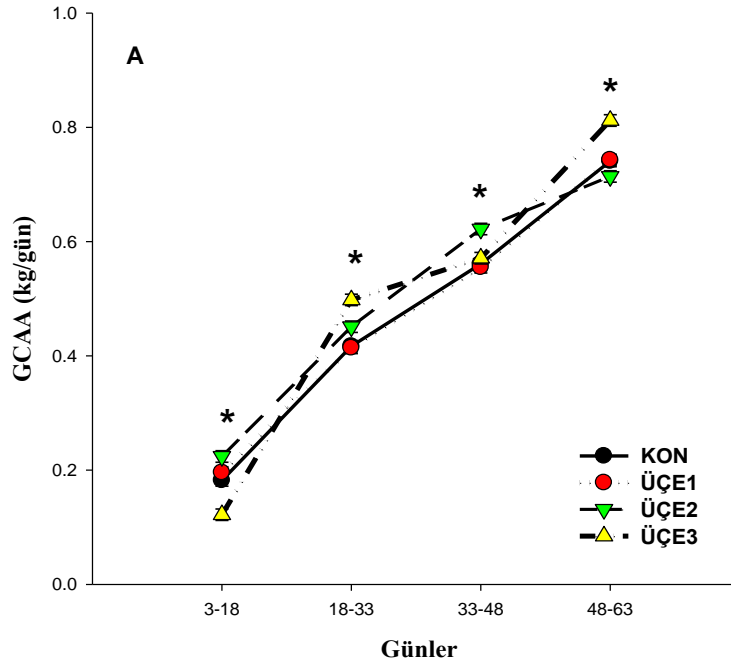
Buzağuların başlangıç ve bitiş canlı ağırlıkları bakımından gruplar arasında fark gözlenmemiştir ( $P>0,05$ ; Tablo 7). Çalışmanın 3-18 ve 33-48 günleri arasında ÜÇE2 grubundaki buzağuların günlük canlı ağırlık artışının daha fazla olduğu görülmüştür ( $P<0,01$ ). Çalışma başlangıcında günlük 100 mg/kg canlı ağırlık dozunda ÜÇE takviyesi buzağular üzerinde olumsuz bir etki yaratmış ve ÜÇE3 grubundaki buzağuların 3-18 günler arasındaki günlük canlı ağırlık artışının daha az olduğu tespit edilmiştir ( $P<0,01$ ; Tablo 7 ve Şekil 19A). Ancak 18-33 ve 48-63 günler arasında en yüksek günlük canlı ağırlık artışı ÜÇE3 grubundaki buzağularda bulunmuştur ( $P<0,01$ ). Ayrıca, ÜÇE2 ve ÜÇE3 grubundaki buzağular, tüm çalışma süresi boyunca daha fazla günlük canlı ağırlık artışı gösterme eğiliminde olduğu belirlenmiştir ( $P=0,10$ ). Çalışmanın 18-48 günleri arasında ÜÇE2 ve ÜÇE3 gruplarındaki buzağuların KON ve ÜÇE1 gruplarındaki buzağulardan daha fazla buzağı TMR'si tükettiği, ancak en yüksek tüketimin ÜÇE3 grubunda olduğu gözlenmiştir ( $P<0,01$ ; Tablo 7 ve Şekil 19B). Ayrıca 48-63 günler arasında ve tüm çalışma süresi boyunca ÜÇE3 grubundaki buzağuların TMR tüketiminin diğer gruplardan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $P<0,01$ ). Çalışma süresi boyunca gruplar arası toplam KMT'nin, buzağı TMR'si tüketimine benzer olduğu görülmüştür (Tablo 7). ÜÇE2 grubundaki buzağuların 3-18 günler arasında YYO'nun daha fazla olduğu ( $P<0,01$ ), ancak ÜÇE3 grubunda günlük canlı ağırlık artışına benzer şekilde azaldığı tespit edilmiştir ( $P<0,01$ ). Çalışmanın 18-33 günleri arasında ÜÇE3 grubundaki buzağuların YYO diğer gruplara göre artış eğilimi göstermiştir ( $P=0,06$ ), ancak 33-48 günler arasında YYO'nun bu grupta daha düşük olduğu gözlenmiştir ( $P<0,01$ ). Tüm çalışma süresi boyunca YYO bakımından gruplar arasında fark gözlenmemiştir ( $P>0,05$ ).

**Tablo 7.** Sıcak stresi altındaki buzağılarda farklı seviyelerde üzüm çekirdeği ekstraktının büyüme performansı üzerine etkisi

	KON	ÜÇE1	ÜÇE2	ÜÇE3	SH <sub>X</sub>	P
<b>Başlangıç CA (kg)</b>	40,50	40,60	40,31	40,83	0,68	0,96
<b>Bitiş CA (kg)</b>	68,97	69,24	70,47	70,91	1,02	0,46
<b>GCAA (kg/gün)</b>						
<b>3-18 gün</b>	0,182 <sup>b</sup>	0,196 <sup>b</sup>	0,224 <sup>a</sup>	0,122 <sup>c</sup>	0,01	< 0,01
<b>18-33 gün</b>	0,417 <sup>c</sup>	0,414 <sup>c</sup>	0,451 <sup>b</sup>	0,498 <sup>a</sup>	0,01	< 0,01
<b>33-48 gün</b>	0,561 <sup>b</sup>	0,555 <sup>b</sup>	0,622 <sup>a</sup>	0,571 <sup>b</sup>	0,01	< 0,01
<b>48- 63 gün</b>	0,741 <sup>b</sup>	0,743 <sup>b</sup>	0,714 <sup>b</sup>	0,812 <sup>a</sup>	0,01	< 0,01
<b>3-63 gün</b>	0,474	0,477	0,503	0,501	0,01	0,10
<b>Buzağı TMR'si tüketimi (kg KM/gün)</b>						
<b>3-18 gün</b>	0,058	0,055	0,060	0,064	0,01	0,28
<b>18-33 gün</b>	0,193 <sup>c</sup>	0,186 <sup>c</sup>	0,232 <sup>b</sup>	0,286 <sup>a</sup>	0,01	< 0,01
<b>33-48 gün</b>	0,419 <sup>c</sup>	0,430 <sup>c</sup>	0,511 <sup>b</sup>	0,557 <sup>a</sup>	0,01	< 0,01
<b>48- 63 gün</b>	0,746 <sup>b</sup>	0,758 <sup>b</sup>	0,772 <sup>b</sup>	0,900 <sup>a</sup>	0,02	< 0,01
<b>3-63 gün</b>	0,388 <sup>b</sup>	0,394 <sup>b</sup>	0,434 <sup>b</sup>	0,498 <sup>a</sup>	0,02	< 0,01
<b>Toplam KMT (kg/gün)</b>						
<b>3-18 gün</b>	0,799	0,801	0,802	0,797	0,01	0,93
<b>18-33 gün</b>	0,943 <sup>c</sup>	0,936 <sup>c</sup>	0,982 <sup>b</sup>	1,036 <sup>a</sup>	0,01	< 0,01
<b>33-48 gün</b>	1,169 <sup>c</sup>	1,180 <sup>c</sup>	1,261 <sup>b</sup>	1,307 <sup>a</sup>	0,01	< 0,01
<b>48- 63 gün</b>	1,495 <sup>b</sup>	1,493 <sup>b</sup>	1,522 <sup>b</sup>	1,650 <sup>a</sup>	0,02	< 0,01
<b>3-63 gün</b>	1,136 <sup>b</sup>	1,143 <sup>b</sup>	1,182 <sup>b</sup>	1,244 <sup>a</sup>	0,02	< 0,01
<b>YYO<sup>5</sup> (GCAA/kg KMT)</b>						
<b>3-18 gün</b>	0,229 <sup>b</sup>	0,245 <sup>b</sup>	0,279 <sup>a</sup>	0,153 <sup>c</sup>	0,01	< 0,01
<b>18-33 gün</b>	0,442	0,443	0,460	0,481	0,01	0,06
<b>33-48 gün</b>	0,480 <sup>a</sup>	0,471 <sup>a</sup>	0,493 <sup>a</sup>	0,437 <sup>b</sup>	0,01	< 0,01
<b>48- 63 gün</b>	0,497 <sup>a</sup>	0,497 <sup>a</sup>	0,470 <sup>b</sup>	0,492 <sup>a</sup>	0,01	0,03
<b>3-63 gün</b>	0,417	0,418	0,426	0,403	0,01	0,22

SH<sub>X</sub>: Standart Hata, CA: Canlı Ağırlık, GCAA: Günlük Canlı Ağırlık Artışı, KMT: Kuru Madde Tüketimi, YYO: Yemden Yararlanma Oranı

<sup>a-c</sup> Farklı üst simgelere sahip bir satır içindeki ortalamalar farklıdır (P< 0,05).



**Şekil 19.** Sıcak stresi altındaki buzağılarda farklı seviyelerde üzüm çekirdeği ekstraktının (A) GCAA ve (B) buzağı TMR'si tüketimi üzerine etkisi. \* $P < 0,05$  gruplar arasındaki farkı göstermektedir.

## 4.2. Plazma Antioksidan ve Sitokin Konsantrasyonları

Plazma MDA konsantrasyonu KON grubuna kıyasla ÜÇE1, ÜÇE2 ve ÜÇE3 gruplarında azalmıştır ( $P<0,001$ ; Tablo 8). Ayrıca MDA konsantrasyonu açısından doz  $\times$  zaman etkileşimi gözlenmiştir. Çalışmanın 33. gününde MDA konsantrasyonu ÜÇE1 grubunda artmasına rağmen, 63. günde KON ile karşılaştırıldığında ÜÇE1, ÜÇE2 ve ÜÇE3 gruplarında azalmıştır ( $P<0,001$ ; Şekil 20A). Plazma TAK konsantrasyonu doz  $\times$  zaman etkileşiminden etkilenmiştir. ÜÇE3 grubundaki buzağuların 33. günde KON grubundaki buzağulara kıyasla daha yüksek TAK konsantrasyonuna sahip olduğu gözlenmiştir ( $P=0,02$ ; 7,73'e karşı 6,56 ng/mL, Şekil 20B). Dozun etkisine bağlı olarak ÜÇE2 ve ÜÇE3 gruplarındaki buzağularda plazma SOD konsantrasyonunun KON ve ÜÇE1 gruplarındaki buzağulardan daha yüksek olduğu görülmüştür ( $P<0,01$ ). Plazma GPx, katalaz (KAT) ve IL-1 $\alpha$  konsantrasyonları için doz veya doz  $\times$  zaman etkileşimi gözlenmemiştir ( $P>0,05$ ). Fakat, dozun etkisine bağlı olarak ÜÇE2 grubundaki buzağuların GPx konsantrasyonu, ÜÇE1 grubundaki buzağulardan daha yüksek olma eğiliminde olduğu tespit edilmiştir ( $P=0,09$ ; Tablo 8). Plazma TNF- $\alpha$  konsantrasyonu dozun etkisine bağlı olarak KON grubundaki buzağulara kıyasla ÜÇE1, ÜÇE2 ve ÜÇE3 gruplarındaki buzağularda azalmıştır ( $P=0,005$ ). Aynı sonuç, çalışmanın 33. gününde doz  $\times$  zaman etkileşiminde de gözlenmiştir ( $P=0,006$ ; Şekil 21A). Ayrıca, diğer gruplara kıyasla ÜÇE1 grubundaki buzağularda plazma IFN-y konsantrasyonu azalmıştır ( $P=0,03$ ; Tablo 8). Aynı sonuç 63. günde doz  $\times$  zaman etkileşiminde de gözlenmiştir ( $P<0,05$ ; Şekil 21B).

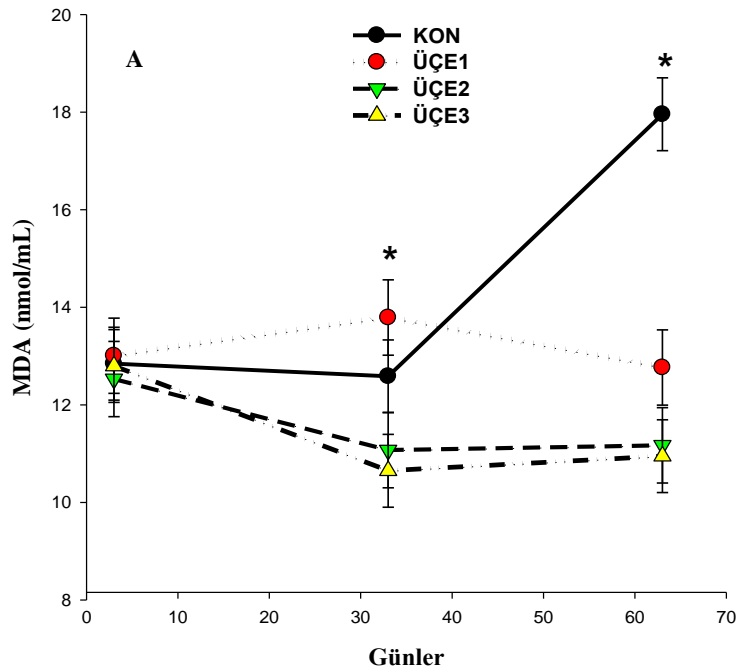
**Tablo 8.** Sıcak stresi altındaki buzağılarda farklı seviyelerde üzüm çekirdeği ekstraktı kullanımının plazma antioksidan durum ve sitokinler üzerindeki etkisi

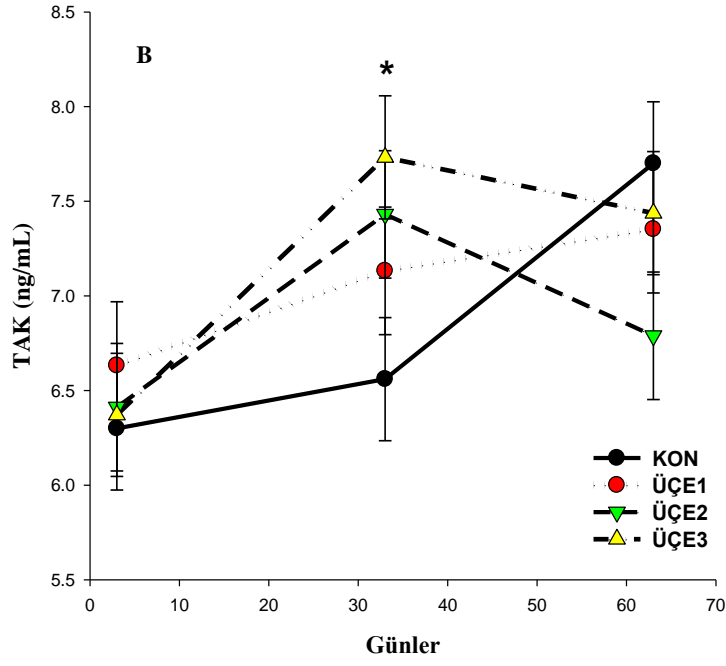
Parametre	Doz					P <sup>1</sup>		
	KON	ÜÇE1	ÜÇE2	ÜÇE3	SH <sub>X</sub>	Doz	Zaman	Doz × Zaman
MDA, nmol/mL	14,46 <sup>a</sup>	13,18 <sup>b</sup>	11,58 <sup>c</sup>	11,46 <sup>c</sup>	0,60	< 0,001	0,09	< 0,001
TAK, ng/mL	6,85	7,03	6,87	7,18	0,26	0,57	< 0,001	0,02
GPx, ng/mL	29,48	27,65	29,77	28,22	0,94	0,09	< 0,001	0,25
SOD, ng/mL	7,53 <sup>b</sup>	7,24 <sup>b</sup>	8,06 <sup>a</sup>	8,25 <sup>a</sup>	0,28	< 0,01	< 0,001	0,19
KAT, ng/mL	4,57	4,39	4,44	4,60	0,20	0,70	0,12	0,46
TNF- $\alpha$ , ng/L	504,21 <sup>a</sup>	417,06 <sup>b</sup>	411,07 <sup>b</sup>	403,83 <sup>b</sup>	17,39	0,005	0,39	0,006
IFN- $\gamma$ , ng/L	27,33 <sup>a</sup>	24,09 <sup>b</sup>	27,14 <sup>a</sup>	26,82 <sup>a</sup>	1,20	0,03	< 0,001	0,05
IL-1- $\alpha$ , ng/L	19,76	19,11	19,75	18,21	1,02	0,38	< 0,001	0,98

<sup>1</sup>Doz = dozun etkisi, Zaman = zamanın etkisi; Doz × Zaman = doz × zaman etkileşimi

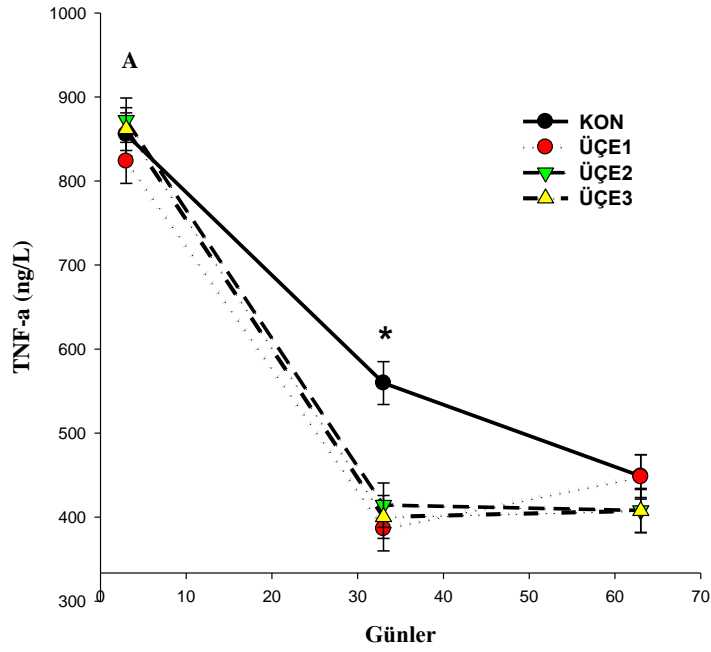
SH<sub>X</sub>: Standart Hata, MDA: malondialdehit, TAK: toplam antioksidan kapasite, GPx: glutatyon peroksidaz, SOD: süperoksit dismutaz, KAT: katalaz, TNF- $\alpha$ : tümör nekroz faktör- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ = interferon- $\gamma$ , IL-1- $\alpha$ = interlökin-1-  $\alpha$

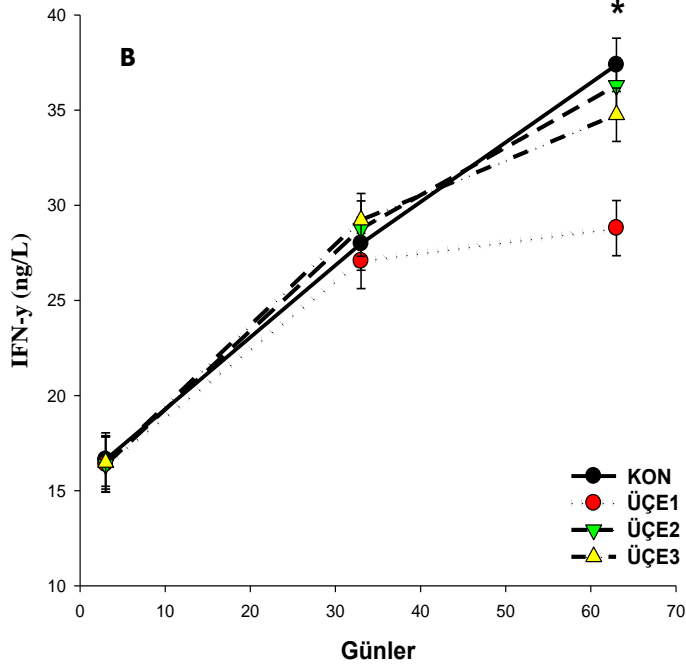
<sup>a-c</sup> Farklı üst simgelere sahip bir satır içindeki ortalamalar farklıdır (P< 0,05).





**Şekil 20.** Sıcak stresi altındaki buzağılarda farklı seviyelerde üzüm çekirdeği ekstraktının (A) MDA ve (B) TAK konsantrasyonları üzerindeki etkisi. \* $P \leq 0,05$  gruplar arasındaki farkı göstermektedir.





**Şekil 21.** Sıcak stresi altındaki buzağılarda farklı seviyelerde üzüm çekirdeği ekstraktının (A) TNF- $\alpha$  ve (B) IFN- $\gamma$  konsantrasyonları üzerindeki etkisi. \* $P < 0,05$  gruplar arasındaki farkı göstermektedir.

### 4.3. Kan Metabolitleri ve Endokrin Tepkiler

Serum biyokimyasal parametreler, plazma akut faz proteinleri ve hormonal tepkilerin sonuçları tablo 9'da gösterilmiştir. ÜÇE2 grubundaki buzağuların, diğer gruplara kıyasla daha düşük serum NEFA konsantrasyonuna sahip olduğu gözlenmiştir ( $P=0,003$ ). Ayrıca NEFA konsantrasyonu için 3. günde doz  $\times$  zaman etkileşimi gözlenmesine rağmen, kan örnekleri ÜÇE takviyesinden önce alındığından 3. gündeki NEFA konsantrasyonları arasındaki farklılıklar önemsiz kabul edilmiştir ( $P < 0,001$ ). Dozun etkisine bağlı olarak, ÜÇE3 grubundaki buzağuların plazma insülin konsantrasyonu diğer gruplara göre azalmıştır ( $P < 0,001$ ; Tablo 9). Plazma insülin konsantrasyonu üzerinde ayrıca çalışmanın 33. ve 63. günlerinde doz  $\times$  zaman etkileşimi gözlenmiştir (Şekil 22A). ÜÇE1 ve ÜÇE2 gruplarındaki buzağuların plazma insülin konsantrasyonları çalışmanın 33. gününde KON ve ÜÇE3 gruplarındaki buzağulara kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $P < 0,01$ ). Fakat



63. günde ÜÇE2 grubundaki buzağuların insülin konsantrasyonunun düştüğü gözlenmiştir ( $P<0,05$ ; Şekil 22A). Glukoz, ALT, haptoglobin ve Hsp70 konsantrasyonları doz veya doz  $\times$  zaman etkileşiminden etkilenmemiştir ( $P>0,05$ ). Ancak zamanın etkisine bağlı olarak tüm gruplardaki buzağularda glukoz, ALT, haptoglobin konsantrasyonlarının azaldığı, Hsp70 konsantrasyonunun ise fizyolojik olarak arttığı tespit edilmiştir ( $P<0,001$ ). Dozun etkisine bağlı olarak KON grubuna kıyasla ÜÇE1 grubundaki buzağuların serum AST konsantrasyonu azalmıştır ( $P=0,03$ ; Tablo 9). Sonuçlar dozun etkisine bağlı olarak ÜÇE dozu arttıkça plazma kortizol konsantrasyonunun azaldığını göstermiştir ( $P<0,01$ ; Tablo 9). Ayrıca kortizol konsantrasyonu için doz  $\times$  zaman etkileşimi gözlenmiştir. Bu bağlamda, çalışmanın 33. ve 63. günlerinde ÜÇE2 ve ÜÇE3 gruplarındaki buzağuların kortizol konsantrasyonlarının KON grubundakilere göre daha düşük olduğu görülmüştür ( $P<0,01$ ; Şekil 22B). Benzer etki olarak çalışmanın 63. gününde KON grubuna kıyasla ÜÇE2 ve ÜÇE3 gruplarındaki buzağuların plazma leptin konsantrasyonu azalmıştır ( $P<0,01$ ; Şekil 22C).

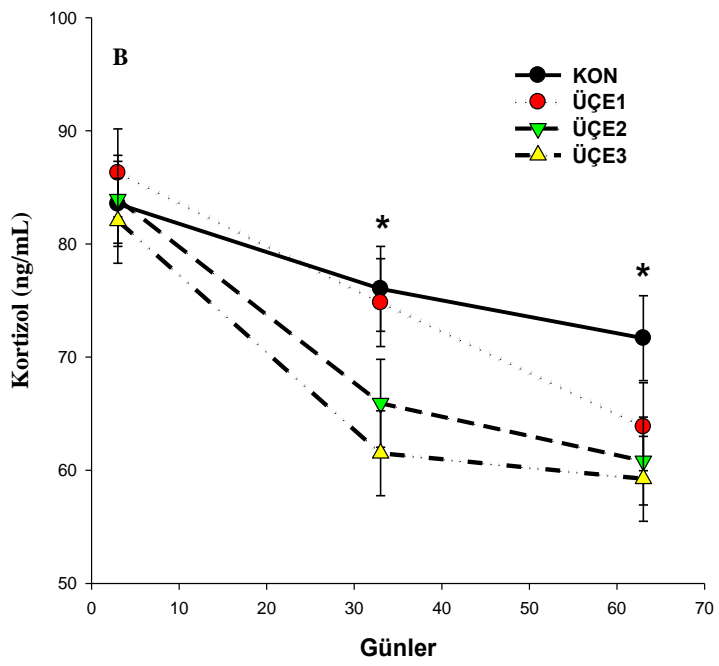
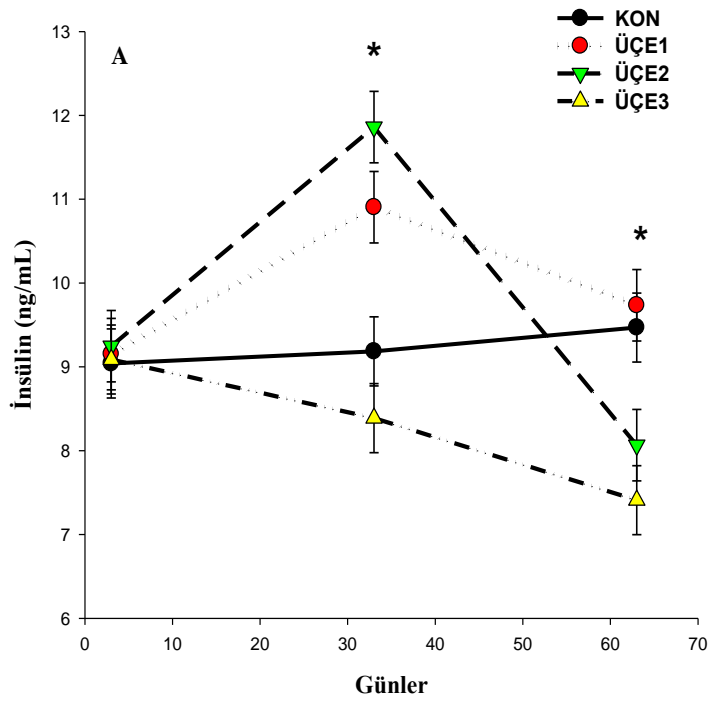
**Tablo 9.** Sıcaklık stresi altında buzağularda farklı seviyelerde üzüm çekirdeği ekstraktı kullanımının serum biyokimyasal metabolitler, plazma akut faz proteinleri ve hormonlar üzerindeki etkisi

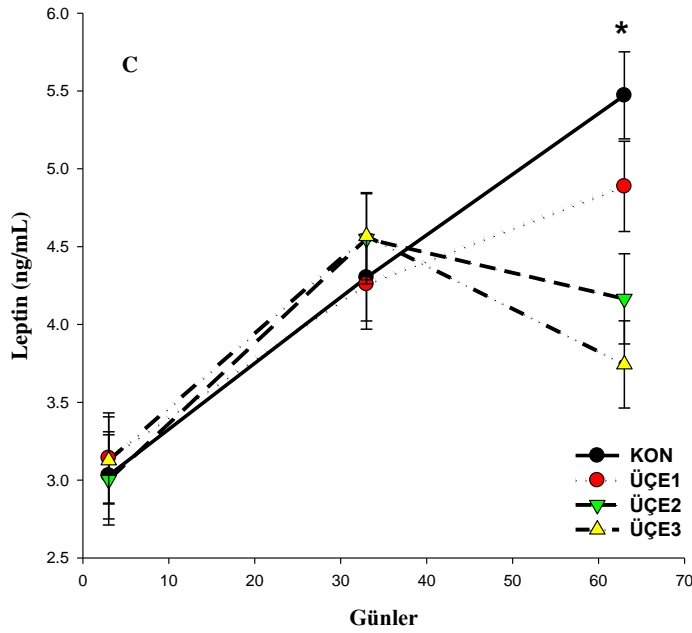
Parametre	Doz					$P^1$		
	KON	ÜÇE1	ÜÇE2	ÜÇE3	$SH_x$	Doz	Zaman	Doz $\times$ Zaman
NEFA (mmol/L)	0,38 <sup>a</sup>	0,39 <sup>a</sup>	0,33 <sup>b</sup>	0,41 <sup>a</sup>	0,02	0,003	< 0,001	< 0,001
Glikoz (mg/dL)	104,23	99,75	100,93	99,34	3,55	0,50	< 0,001	0,93
İnsülin (ng/mL)	9,23 <sup>a</sup>	9,93 <sup>a</sup>	9,72 <sup>a</sup>	8,29 <sup>b</sup>	0,25	< 0,001	< 0,001	< 0,001
AST (U/L)	84,76 <sup>a</sup>	78,05 <sup>b</sup>	80,07 <sup>ab</sup>	80,02 <sup>ab</sup>	2,97	0,03	< 0,001	0,51
ALT (U/L)	21,64	22,02	21,83	22,28	0,94	0,91	< 0,001	0,88
Hoptaglobin ( $\mu$ g/mL)	108,19	110,03	105,02	108,05	4,67	0,77	< 0,001	0,41
Hsp70 (ng/mL)	13,72	13,78	13,83	13,58	0,65	0,98	< 0,001	0,99
Kortizol (ng/mL)	77,08 <sup>a</sup>	74,98 <sup>ab</sup>	70,23 <sup>b</sup>	67,60 <sup>bc</sup>	3,05	< 0,01	< 0,001	0,03
Leptin (ng/mL)	4,27	4,09	3,90	3,81	0,24	0,25	< 0,001	0,005

<sup>1</sup> Doz = dozun etkisi, Zaman = zamanın etkisi; Doz  $\times$  Zaman = doz  $\times$  zaman etkileşimi

$SH_x$ : Standart Hata, AST: aspartat aminotransferaz, ALT: alanin aminotransferaz, Hsp70 = heat shock protein 70.

<sup>a-c</sup> Farklı üst simgelere sahip bir satır içindeki ortalamalar farklıdır ( $P< 0,05$ ).





**Şekil 22.** Sıcak stresi altındaki buzağılarda farklı seviyelerde üzüm çekirdeği ekstraktının (A) insülin, (B) kortizol ve (C) leptin konsantrasyonları üzerindeki etkisi. \* $P < 0,05$  gruplar arasındaki farkı göstermektedir.

#### 4.4. Hematolojik Parametreler

Tam kan sayımı sonuçları tablo 10'da verilmiştir. Eritrogram parametrelerinde doz ve doz  $\times$  zaman etkileşiminin olduğu gözlenmiştir. Dozun etkisine bağlı olarak KON grubuna kıyasla ÜÇE1, ÜÇE2 ve ÜÇE3 gruplarındaki buzağuların daha yüksek hematokrit yüzdesi, RBC sayısı ve hemoglobin konsantrasyonuna sahip olduğu görülmüştür ( $P < 0,01$ ; Tablo 10). Aynı sonuçlar çalışmanın 33. gününde de görülmüştür ( $P < 0,05$ ; Şekil 23). WBC, lenfosit ve monosit sayıları için dozun etkisinin olmadığı tespit edilmiştir ( $P > 0,05$ ). Bununla birlikte, WBC ve monosit sayıları için doz  $\times$  zaman etkileşiminin olduğu belirlenmiştir. Çalışmanın 33. gününde diğer gruplara kıyasla ÜÇE1 grubundaki buzağuların daha düşük WBC sayısına sahip olduğu görülmüştür ( $P < 0,05$ ; Şekil 24A). Çalışmanın 63. gününde ise ÜÇE2 ve ÜÇE3 gruplarındaki buzağuların KON grubundaki buzağulardan daha düşük WBC sayısına sahip olduğu belirlenmiştir ( $P < 0,05$ ; 9,72 ve 9,71'e karşı  $10,60 \times 10^9 \mu\text{L}$ ). Ayrıca ÜÇE2 ve ÜÇE3 gruplarındaki buzağuların KON grubuna kıyasla 33. günde daha yüksek monosit sayısına sahip olduğu görülmüştür ( $P < 0,001$ , 0,89 ve 0,96'ya karşı  $0,74 \times 10^9 \mu\text{L}$ , Şekil 24B). ÜÇE

takviyesi, dozun etkisine bağılı olarak KON ve ÜÇE3 gruplarına kıyasla ÜÇE1 ve ÜÇE2 gruplarındaki buzağılarda nötrofil sayısını azaltmıştır ( $P<0,001$ ; Tablo 10). Ayrıca doz  $\times$  zaman etkileşimine bağılı olarak çalışmanın 63. gününde ÜÇE1, ÜÇE2 ve ÜÇE3 gruplarındaki buzağılarda nötrofil sayısının KON grubundakilere kıyasla düştüğü belirlenmiştir ( $P<0,001$  Şekil 24C). Dozun etkisine bağılı olarak ÜÇE takviyesinin kullanıldığı tüm gruplarda eozinofil sayısının KON grubuna kıyasla arttığı tespit edilmiştir ( $P<0,001$ ). Ek olarak, KON ve ÜÇE1 gruplarındaki buzağılara kıyasla ÜÇE2 grubundaki buzağılarda trombosit sayısı azalmıştır ( $P=0,01$ ; Tablo 10).

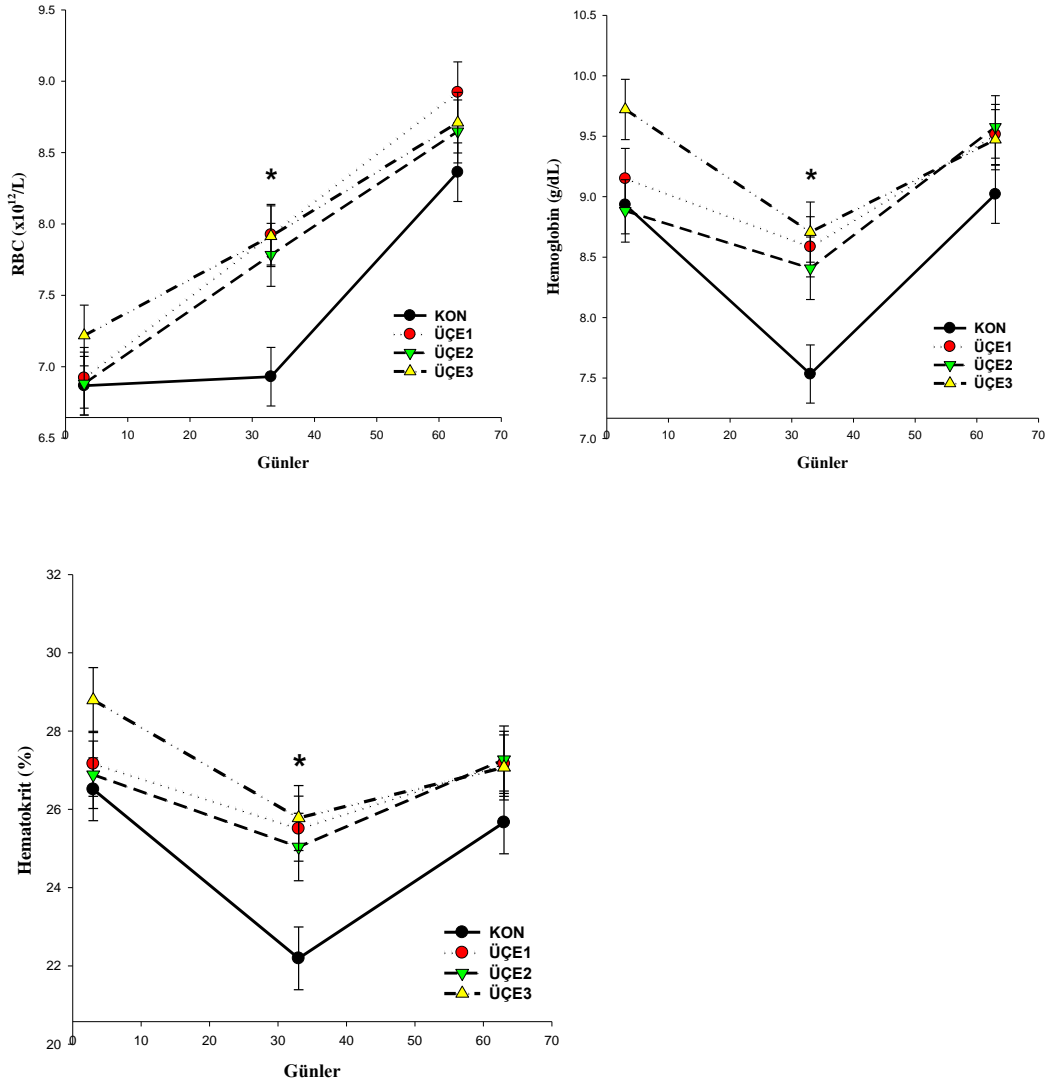
**Tablo 10.** Sıcaklık stresi altında buzağılarda farklı seviyelerde üzüm çekirdeği ekstraktı kullanımının hematolojik parametreler üzerindeki etkisi

Parametre	Doz				$SH_X$	$P^1$		
	KON	ÜÇE1	ÜÇE2	ÜÇE3		Doz	Zaman	Doz $\times$ Zaman
RBC ( $\times 10^{12}/L$ )	7,18 <sup>b</sup>	7,92 <sup>a</sup>	7,77 <sup>a</sup>	7,94 <sup>a</sup>	0,22	0,004	< 0,001	0,01
Hemoglobin (g/dL)	8,26 <sup>b</sup>	9,08 <sup>a</sup>	8,96 <sup>a</sup>	9,30 <sup>a</sup>	0,26	0,002	< 0,001	0,02
Hematocrit (%)	24,12 <sup>b</sup>	26,61 <sup>a</sup>	26,39 <sup>a</sup>	27,21 <sup>a</sup>	0,95	0,009	< 0,001	0,02
WBC ( $\times 10^9/L$ )	9,42	9,14	9,11	9,40	0,24	0,46	< 0,001	0,006
Nötrofil ( $\times 10^9/L$ )	4,25 <sup>a</sup>	3,73 <sup>b</sup>	3,50 <sup>b</sup>	4,19 <sup>a</sup>	0,14	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Lenfosit ( $\times 10^9/L$ )	4,03	4,23	4,29	4,16	0,15	0,40	< 0,001	0,58
Monosit ( $\times 10^9/L$ )	0,91	1,02	0,98	0,99	0,04	0,06	< 0,001	< 0,001
Eozinofil ( $\times 10^9/L$ )	0,16 <sup>c</sup>	0,18 <sup>b</sup>	0,19 <sup>b</sup>	0,22 <sup>a</sup>	0,00	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Trombosit ( $\times 10^9/L$ )	610 <sup>a</sup>	611 <sup>a</sup>	556 <sup>b</sup>	584 <sup>ab</sup>	17,95	0,01	< 0,001	0,001

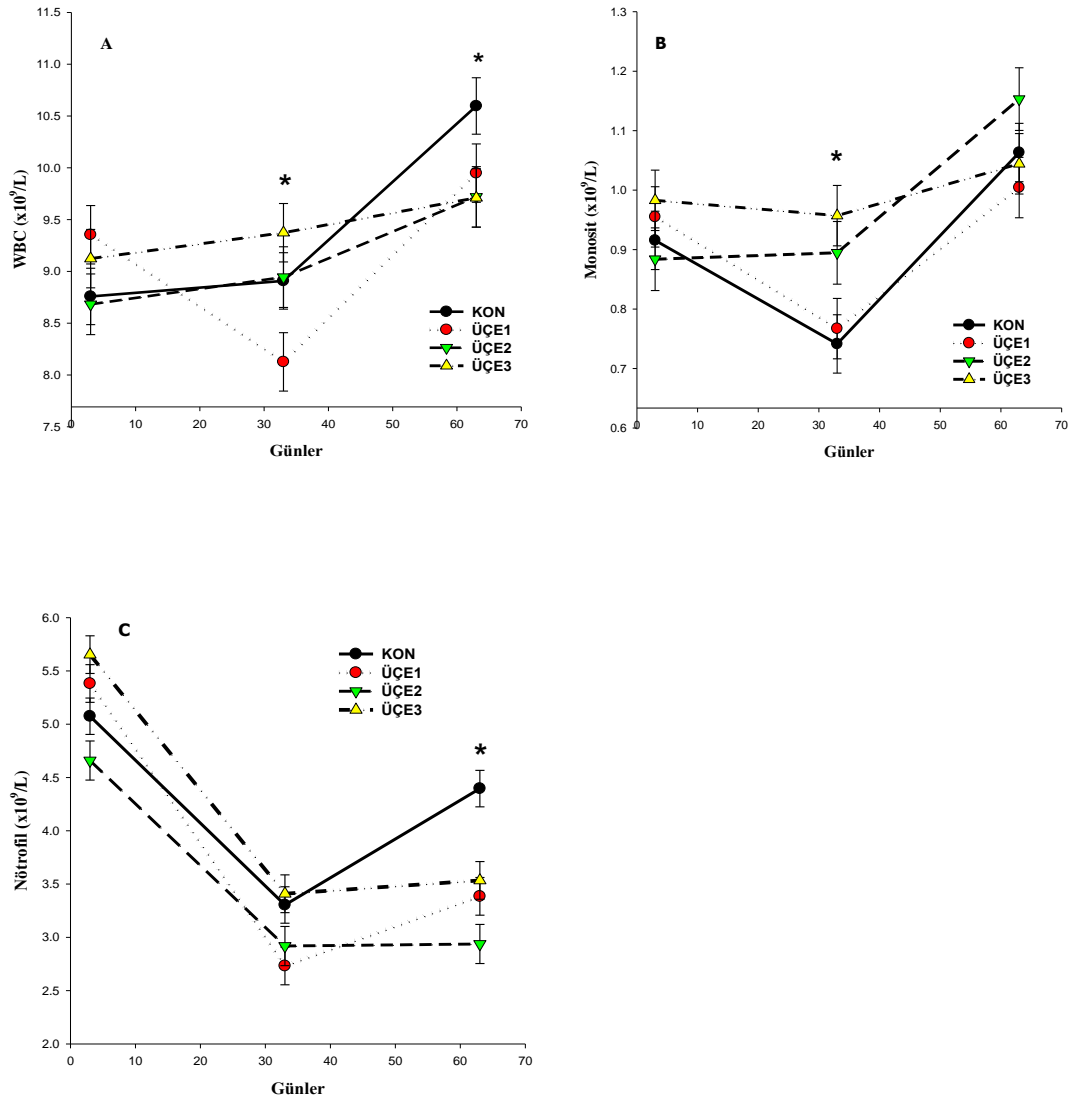
<sup>1</sup> Doz = dozun etkisi, Zaman = zamanın etkisi; Doz  $\times$  Zaman = doz  $\times$  zaman etkileşimi

$SH_X$ : Standart Hata, RBC: kırmızı kan hücreleri, WBC: beyaz kan hücreleri.

<sup>a-c</sup> Farklı üst simgelere sahip bir satır içindeki ortalamalar farklıdır ( $P<0,05$ ).



**Şekil 23.** Sıcak stresi altındaki buzağılarda farklı seviyelerde üzüm çekirdeği ekstraktının hematokrit yüzdesi, RBC sayısı ve hemoglobin konsantrasyonu üzerindeki etkisi. \*P<0,05 gruplar arasındaki farkı göstermektedir.



**Şekil 24.** Sıcak stresi altındaki buzağılarda farklı seviyelerde üzüm çekirdeği ekstraktının (A) WBC, (B) monosit ve (C) nötrofil sayıları üzerindeki etkisi. \* $P<0,05$  gruplar arasındaki farkı göstermektedir.

#### 4.5. Fekal Fermentasyon Parametreleri

Fekal toplam UYA, asetat, propiyonat, bütirat ve valerat konsantrasyonları dozdan etkilenmiştir. ÜÇE3 grubundaki buzağılarda diğer gruplara kıyasla daha yüksek toplam UYA, asetat, propiyonat ve valerat konsantrasyonlarına sahip olduğu belirlenmiştir ( $P<0,01$ ; Tablo 11). En düşük konsantrasyonlar ÜÇE1 grubundaki buzağılarda gözlenmiştir. Doz  $\times$  zaman etkileşimine bağlı olarak çalışmanın 33. ve 63. günlerinde fekal toplam UYA, asetat, propiyonat, bütirat ve valerat konsantrasyonlarının etkilendiği tespit edilmiştir (Şekil 25). Çalışmanın 33. ve 63.

günlerinde en yüksek toplam VFA, asetat, propiyonat ve valerat konsantrasyonları ÜÇE3 grubundaki buzağılarda görülmüştür ( $P<0,05$ ). Ancak 63. günde ÜÇE3 ve KON grupları arasında fark gözlenmemiştir (Şekil 25). Dozun etkisine bağlı olarak KON ve ÜÇE3 gruplarına kıyasla ÜÇE1 ve ÜÇE2 gruplarındaki buzağılarda fekal bütirat konsantrasyonu azalmıştır ( $P<0,001$ ; Tablo 11). Ayrıca çalışmanın 33. ve 63. günlerinde ÜÇE3 grubundaki buzağılarda ÜÇE1 ve ÜÇE2 gruplarındaki buzağılardan daha yüksek fekal bütirat konsantrasyonuna sahip olduğu belirlenmiştir ( $P<0,05$ ; Şekil 25).

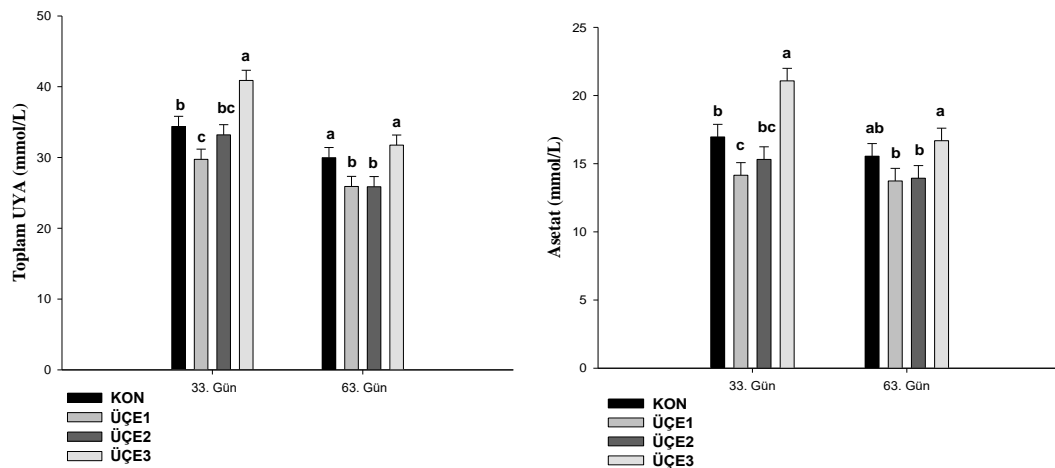
**Tablo 11.** Sıcaklık stresi altında buzağılarda farklı seviyelerde üzüm çekirdeği ekstraktı kullanımının fekal fermentasyon parametreleri üzerindeki etkisi

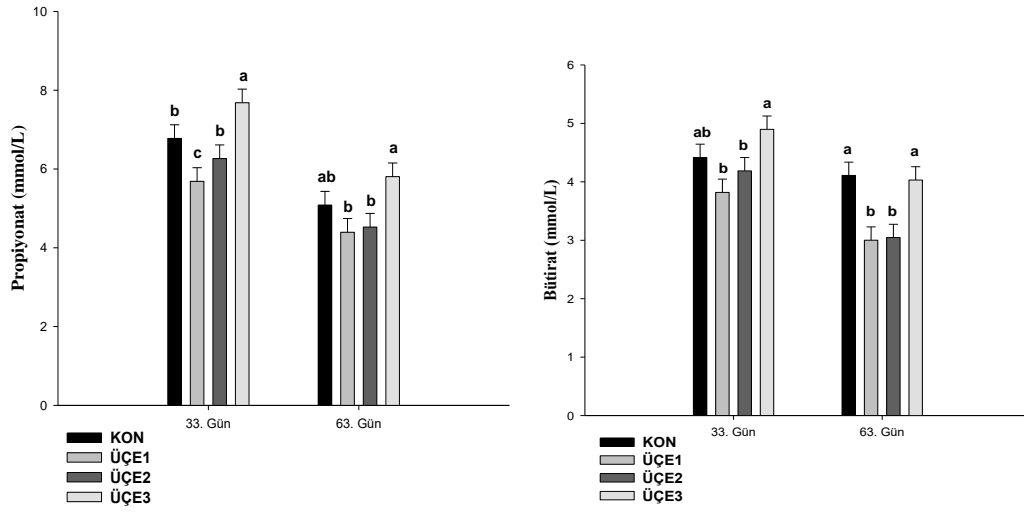
Parametre	Doz				$SH_x$	$P^1$		
	KON	ÜÇE1	ÜÇE2	ÜÇE3		Doz	Zaman	Doz × Zaman
<b>Toplam VFA, mmol/L</b>	32,18 <sup>b</sup>	27,82 <sup>c</sup>	29,54 <sup>bc</sup>	36,32 <sup>a</sup>	1,57	< 0,001	< 0,001	0,05
<b>Asetat</b>	16,25 <sup>b</sup>	13,94 <sup>c</sup>	14,62 <sup>bc</sup>	18,88 <sup>a</sup>	1,04	< 0,001	0,002	0,04
<b>Propiyonat</b>	5,93 <sup>b</sup>	5,04 <sup>c</sup>	5,39 <sup>bc</sup>	6,74 <sup>a</sup>	0,35	< 0,001	< 0,001	0,04
<b>İsobütirat</b>	1,58	1,47	1,42	1,43	0,07	0,12	0,005	0,52
<b>Bütirat</b>	4,26 <sup>a</sup>	3,41 <sup>b</sup>	3,62 <sup>b</sup>	4,46 <sup>a</sup>	0,21	< 0,001	< 0,001	0,04
<b>İsovalerat</b>	2,24	2,03	2,21	2,27	0,17	0,51	< 0,001	0,06
<b>Valerat</b>	2,15 <sup>bc</sup>	1,93 <sup>c</sup>	2,27 <sup>b</sup>	2,54 <sup>a</sup>	0,12	< 0,001	< 0,001	0,009

<sup>1</sup> Doz = dozun etkisi, Zaman = zamanın etkisi; Doz × Zaman = doz × zaman etkileşimi

$SH_x$ : Standart Hata

<sup>a-c</sup> Farklı üst simgelere sahip bir satır içindeki ortalamalar farklıdır ( $P< 0,05$ ).





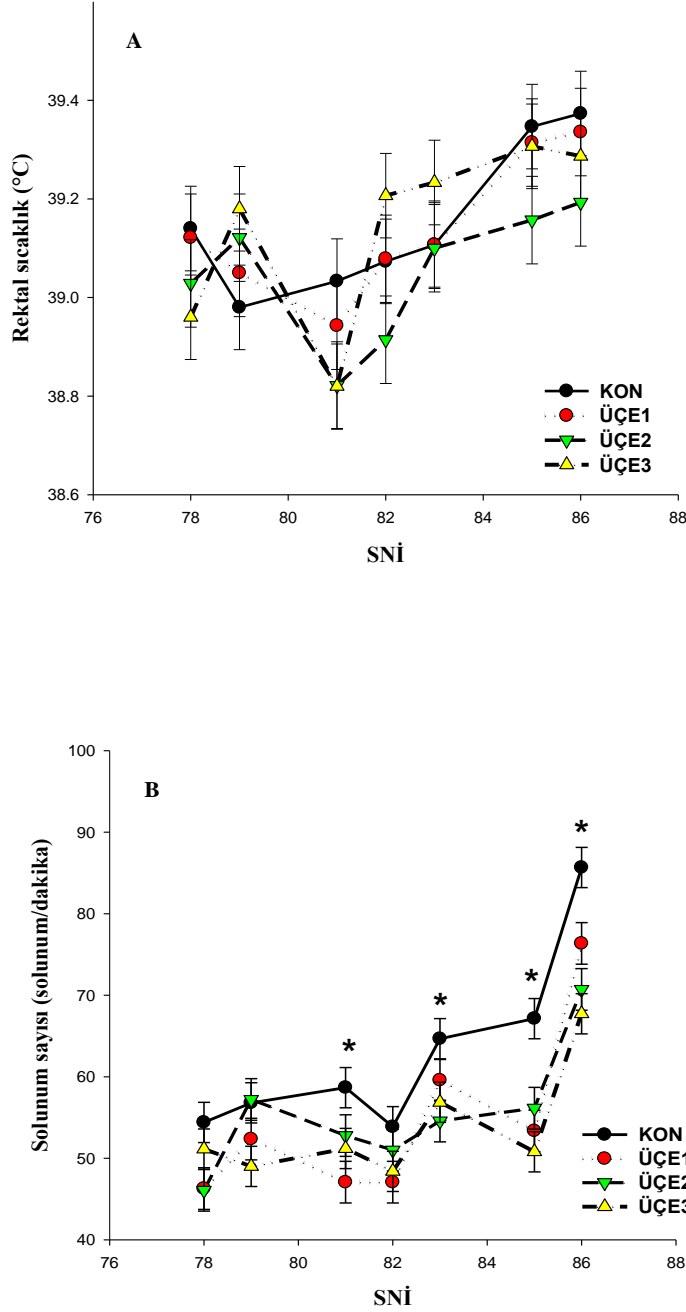
**Şekil 25.** Sıcak stresi altındaki buzağılarda farklı seviyelerde üzüm çekirdeği ekstraktının fekal toplam UYA, asetat, propiyonat ve bütirat konsantrasyonları üzerindeki etkisi. <sup>a-c</sup> P < 0,05 gruplar arasındaki farkı göstermektedir.

#### 4.6. Fizyolojik Parametreler

Rektal sıcaklık ve solunum sayısı üzerinde SNİ'nin etkisi gözlenmiş, SNİ değeri arttıkça rektal sıcaklık ve solunum sayısının arttığı görülmüştür (P<0,001; Şekil 26). Fakat rektal sıcaklık için doz veya doz × SNİ etkileşimi gözlenmemiştir (P>0,05; Şekil 26A). Bununla birlikte, rektal sıcaklık üzerinde dozun etkisi gözlenmiş olup, ÜÇE2 grubundaki buzağuların ortalama rektal sıcaklığı KON grubundakilere kıyasla daha düşük olma eğilimindeydi (P=0,10; 39,04 °C'ye karşı 39,15 °C). Dozun etkisine bağlı olarak ÜÇE1, ÜÇE2 ve ÜÇE3 gruplarındaki buzağuların solunum sayısı KON grubundakilere kıyasla azalmıştır (P<0,001; 54,58, 55,50 ve 53,59'a karşı 63,03 solunum/dakika). Ayrıca solunum sayısı üzerinde doz × SNİ etkileşimi görülmüştür. SNİ değeri 81'e ulaştığında ÜÇE1 grubundaki buzağuların solunum sayısının KON grubundakilerden daha az olduğu tespit edilmiştir (P<0,01; 47,07'ye karşı 58,67 solunum/dakika, Şekil 26B). SNİ değeri 83'e ulaştığında ÜÇE2 grubundaki buzağuların solunum sayısının KON grubundakilere göre daha düşük olduğu görülmüştür (P< 0,01; 59,57'ye karşı 64,67 solunum/dakika). SNİ değeri hem 85 hemde 86,5'e ulaştığında ÜÇE takviyesinin yapıldığı tüm gruplardaki buzağılarda solunum sayısının KON grubundakilerden daha düşük



olduğu saptanmıştır ( $P<0,01$ ; Şekil 26B). ÜÇE takviyesinin etkili olmasına rağmen, özellikle SNI değeri 86,5'e ulaştığında solunum sayısının tüm gruplarda aniden arttığı görülmüştür (KON, ÜÇE1, ÜÇE2 ve ÜÇE3 için sırasıyla 85,67, 76,36, 70,71 ve 67,73 solunum/dakika).



Şekil 26. Sıcak stresi altındaki buzağılarda farklı seviyelerde üzüm çekirdeği ekstraktının (A) rektal sıcaklık (°C) ve (B) solunum sayısı (solunum/dakika) üzerindeki etkisi. \* $P<0,05$  gruplar arasındaki farkı göstermektedir.

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Sıcak stresi koşullarında buzağular oksidatif strese maruz kalmakta, buzağuların yem tüketimi ve GCAA azalmaktadır. Mevcut çalışmada, günlük 50 ve 100 mg/kg canlı ağırlık dozunda üzüm çekirdeği ekstraktı (ÜÇE) takviyesinin sıcak stresi altındaki buzağularda 63. güne kadar buzağı TMR'si tüketimini, toplam kuru madde tüketimini ve GCAA'nı arttırdığı görülmüştür (Tablo 7). Buzağuların GCAA'nda ve TMR tüketimindeki bu artışa, üzüm çekirdeği ekstraktı polifenollerinin yüksek antioksidan ve antienflamatuvar etkilerinin sebep olabileceği düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda üzüm çekirdeği ekstraktının fenolik bileşeni olan gallik asidin, bağırsak villus uzunluğunu ve kript derinliğini artırarak bağırsak morfolojisini iyileştirebileceği, böylece besinlerin sindirimini ve emilimini arttırabileceği gösterilmiştir (Cai, Li, Wei, Li, & Jiang, 2020; Samuel ve ark., 2017). Ayrıca, uygun miktarda üzüm çekirdeği prosiyanidinleri kullanımının, bağırsak epitel geçirgenliğini azaltabileceği ve enzim aktivitesini arttırabileceği belirtilmiştir (Li, Yan, Li, Gao, & Hao, 2020). Yaptığımız çalışmaya benzer olarak rasyona 300 mg/kg ÜÇE ilavesinin, sıcak stresi altındaki etlik piliçlerin ve tavşanların büyüme performansını arttırdığı belirtilmiştir (Hajati, Hassanabadi, Golian, Nassiri-Moghaddam, & Nassiri, 2015; Hassan ve ark., 2016). Buna karşılık başka bir çalışmada ise sıcak stresi uygulanan etlik piliçlerin rasyonlarına farklı miktarlarda üzüm posası ilavesinin, büyüme performansını ve jejunal morfolojiyi etkilemediği belirtilmiştir (Hosseini-Vashan, Safdari-Rostamabad, Piray, & Sarir, 2019). Mevcut çalışmanın ilk 18 gününde 100 mg/kg canlı ağırlık dozunda ÜÇE takviyesinin buzağuların GCAA üzerinde olumsuz etkisi olduğu, 50 mg/kg canlı ağırlık dozunda ÜÇE takviyesinin ise sıcak stresi altındaki buzağuların GCAA'nı önemli ölçüde arttırdığı görülmüştür (Tablo 7). Bu etkiye aşırı miktarda polifenol yol açmış olabilir. Çünkü aşırı miktardaki polifenol, yemlerdeki proteinlerle etkileşime girebilmekte veya endojen olarak etkileşime girerek sindirim sistemi boyunca protein-taninler gibi çözünmeyen kompleksler oluşturabilmektedir. Bu durum büyüme için gerekli besinlerin kullanımının azalmasına yol açabilmektedir (Xia ve ark., 2010). Ayrıca aşırı miktarda üzüm çekirdeği prosiyanidin takviyesinin, sindirim enzimlerinin aktivitesini azaltabileceği belirtilmiştir (Li ve ark., 2020). Bu nedenle çalışmamızda ÜÇE3 grubundaki yeni doğmuş olan buzağuların sindirim enzimleri ilk günlerde

yetersiz kalmış olabilir. Bu çalışma ve diğer hayvan türlerinde yapılan çalışmalar sonucu performans üzerinde elde edilen bu farklılıklar; tüketilen toplam fenolik madde konsantrasyonundaki ve kullanılan üzüm yan ürünlerinin fenolik profilindeki farklılıklardan, ayrıca sıcak stresinin seviyesinden kaynaklanmış olabilir.

SOD, GPx ve katalaz enzimleri, oksidatif hasara karşı vücudun antioksidan durumunu değerlendirmek için kullanılan ana endojen parametrelerdir. İlk aktive olan SOD enzimi, süperoksit radikallerini hidrojen peroksite indirgeyerek hücreleri süperoksit radikallerinden korumaktadır. Katalaz, hidrojen peroksinin uzaklaştırılması ve oksijene dönüştürülmesinin ikinci adımında etkili olurken, GPx serbest radikal mutasyon aşamasında hidrojen peroksinin doğrudan indirgenmesini sağlamaktadır. TAK konsantrasyonu, serum veya plazmanın antioksidan durumunu değerlendirmek için en yaygın kullanılan gösterge olup, antioksidan enzimleri ayrıca enzimatik olmayan antioksidanları içermektedir (Tejaswi ve ark., 2020). MDA konsantrasyonu ise lipid peroksidasyon derecesini tahmin etmek için en yaygın kullanılan göstergelerden biridir ve artan serbest radikallerin neden olduğu hücresel membran hasarını göstermektedir (Hao ve ark., 2015). Sıcak stresi durumlarında oksidatif hasar nedeniyle aşırı miktarda hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türleri açığa çıkarak antioksidan savunma sistemlerinin bozulmasına sebep olmaktadır. Bu bağlamda Hosseini-Vashan ve ark. (2019) yaptığı çalışmada, sıcak stresinin etlik piliçlerde SOD ve GPx konsantrasyonlarını azalttığını ve MDA konsantrasyonunu arttırdığını bildirmişlerdir. Sıcak stresi koşulları altındaki buzağılarda yaptığımız bu çalışmada ÜÇE dozlarının artmasına bağlı olarak, plazma MDA konsantrasyonlarının düştüğü, TAK ve SOD konsantrasyonlarının ise arttığı görülmüştür (Tablo 8). Benzer şekilde farklı hayvan türlerinde yapılan çalışmalar üzüm çekirdeği ekstraktı, yan ürünleri ve üzüm çekirdeği fenolik bileşiklerinin lipid peroksidasyonunu hafifletebileceğini, antioksidan enzimlerin ve TAK konsantrasyonlarını artırabileceğini göstermiştir (Ao, & Kim, 2020; Hassan ve ark., 2016; Hosseini-Vashan ve ark., 2019; Mu ve ark., 2020). Üzüm çekirdeği ekstraktının ana fenolik bileşikleri olan kateşin, epikateşin, gallik asit ve prosiyanidinler; esas olarak hidrojen peroksit, hidroksil radikali, süperoksit temizleyerek ve demiri şelatlayarak oksidan oluşumunu engellemektedirler (El-Damrawy, 2014). Ayrıca üzüm çekirdeği ekstraktının; glutatyon-disülfid redüktaz,

süperoksit dismutaz 1, süperoksit dismutaz 2 ve glutatyon peroksidaz 2 gibi antioksidan enzimlerin ekspresyonunu artırarak antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Nallathambi ve ark., 2020). Mevcut çalışmadaki sonuçlarımız, uygun miktarlarda ÜÇE takviyesinin, sıcak stresi altındaki buzağılarda MDA, TAK ve SOD üzerinde olumlu etkiler sağladığını göstermektedir (Tablo 8).

Sıcak stresi koşullarında, kan akışının iç organlardan periferik doğru olması nedeniyle iç organlarda hücresel hipoksi oluşmaktadır. Hipoksi sırasında, NADPH oksidaz ve NOS II'nin enzimatik aktiviteleri ile aşırı miktarda reaktif hidrojen ve nitrojen türleri açığa çıkmaktadır (Hall ve ark., 2001). Bunun sonucunda bağırsak epitelinin oluşturan enterosit zarı ve sıkı bağlantı proteinlerinin bütünlüğü bozulmakta ve bağırsak geçirgenliği artmaktadır. Ayrıca gram negatif bakterilerin hücre duvarı bileşiklerindeki lipopolisakkaritler artan bağırsak geçirgenliği nedeniyle kan dolaşımına geçerek zararlı lokal ve sistemik inflamasyona neden olmaktadır. Artan lipopolisakkarit konsantrasyonu, bağırsak homeostazını bozan IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL6, IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$  gibi proinflamatuvar sitokinlerin aşırı üretimine neden olmaktadır (Lambert, 2009). Üzüm çekirdeği prosiyanidinlerinin, oksidatif strese serbest radikaller tarafından aktive edilen karaciğerdeki NF- $\kappa$ B aktivitesini azaltarak sitokin seviyesini azaltabileceği gösterilmiştir (Terra ve ark., 2011). Ayrıca ÜÇE fenolik bileşiklerinin bağırsak geçirgenliğini azaltabileceği ve sıkı bağlantı proteinlerinin ekspresyonunu artırabileceği de bilinmektedir (Li ve ark., 2020; Nallathambi ve ark., 2020). Mevcut çalışmamızda, ÜÇE takviyesinin kullanıldığı tüm gruplarda plazma TNF- $\alpha$  konsantrasyonunun azaldığı görülmektedir (Tablo 8). Ayrıca, plazma IFN-y konsantrasyonunun ise sadece üzüm çekirdeği ekstraktının 25 mg/kg canlı ağırlık dozunda kullanıldığı gruptaki buzağılarda azaldığı görülmüştür (Tablo 8). Çalışmamıza benzer olarak Mu, Hao, Zhang, Zhao, & Zhang, (2021) yaptıkları çalışmada üzüm çekirdeği prosiyanidinlerinin, yüksek konsantrasyonda yemle beslenen kuzuların kolon mukozasında TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-6 ve IL-1 $\beta$  konsantrasyonlarının salınımını azalttığını göstermişlerdir. Öte yandan üzüm çekirdeği ekstraktının obez insanlarda inflamasyonu azalttığı belirtilmiştir (Parandoosh ve ark., 2020). Çalışmamızdaki sonuçlar, ÜÇE takviyesinin, plazma TNF-a ve IFN-y konsantrasyonlarını azaltarak sıcak stresi altındaki buzağılarda inflamasyonu azaltabileceğini göstermiştir.

Yağ dokusundan salgılanan, beyindeki açlık ve tokluk merkezleriyle ilişkili olan leptinin konsantrasyonu sıcak stresi ile artabilmektedir. Bu nedenle leptinin hipotalamik eksenini uyararak yem tüketimini baskıladığı bilinmektedir (Mahjoubi ve ark., 2015). Çalışmamızın sonunda 50 ve 100 mg/kg canlı ağırlık dozlarında ÜÇE takviyesinin sıcak stresi altındaki buzağılarda leptin konsantrasyonunu azalttığı tespit edilmiştir (Tablo 9). Mevcut çalışmada, ÜÇE2 ve ÜÇE3 gruplarında artan buzağı TMR'si tüketimi ve GCAA'nın, azalan leptin konsantrasyonu ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Tablo 7 ve 9). Ayrıca, Lappas ve ark. (2005) leptinin proinflatuar sitokinlerin salınımını uyardığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda azalmış sitokin konsantrasyonunun, azalmış leptin ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Sıcak stresinde bazal insülin konsantrasyonlarının giderek arttığı gösterilmiş ve buna sıcak stresi koşullarında artan endotoksinlerin neden olabileceği düşünülmektedir (Baumgard, & Rhoads, 2013). Sıcak stresi altındaki sığırlarda insülin konsantrasyonunun artmasıyla glikoz ve NEFA konsantrasyonunun azaldığı gözlemlenmiştir. Sıcak stresinde azalan NEFA, glikoz kullanımının artmasına ve ısı üretiminin düşmesine sebebiyet verebilmektedir (Baumgard, & Rhoads, 2013). Bu nedenle, glikozun sıcak stresi altındaki hayvanlar için tercih edilen bir yakıt olabileceği düşünülmektedir. Sıcak stresi koşullarında yapılan çalışmalarda domuz, tavşan ve etlik piliçlerde ÜÇE ilavesinin, kan glikoz konsantrasyonunu azalttığı ve glikoz kullanılabilirliğini arttırdığı bildirilmiştir (Hajati ve ark., 2015; Hassan ve ark., 2016; Smithson, 2016). Ayrıca üzüm çekirdeği ekstraktının insülin reseptörlerini ve duyarlılığını arttırdığı belirtilmiştir (Smithson, 2016). Benzer şekilde mevcut çalışmamızda da 25 ve 50 mg/kg canlı ağırlık dozlarında ÜÇE takviyesinin 33. günde buzağılarda plazma insülin konsantrasyonunu arttırdığı görülmüştür (Şekil 22A). Bu durum insülin sekresyonuna duyarlılığın arttığını göstermektedir. Ancak çalışmamızın sonunda 50 ve 100 mg/kg canlı ağırlık dozunda ÜÇE takviyesinin yapıldığı gruplarda, plazma insülin konsantrasyonunun düştüğü tespit edilmiştir (Şekil 22A). Bu gruplarda artan yem tüketimi ile azalan leptin konsantrasyonu, azalmış olan insülin ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Çünkü leptinin, insülin duyarlılığını arttırdığı gösterilmiştir (Shimabukuro ve ark., 1997). Ayrıca Suwannaphet ve ark. (2010), üzüm çekirdeği ekstraktının glukoz intoleransını

iyileştirerek hiperglisemi ve hiperinsülinemi önlediğini belirtmişlerdir. Bu çalışmada, ÜÇE takviyesinin insülin konsantrasyonunu değiştirmesine rağmen, glikoz konsantrasyonunun bundan etkilenmediği görülmüştür. Ancak çalışmanın 33. gününde en yüksek insülin konsantrasyonu ÜÇE2 grubunda gözleendiği için, NEFA konsantrasyonu bu grupta azalmıştır (Tablo 9). Ayrıca bu çalışmada görüldüğü üzere ÜÇE takviyesinin, antioksidan enzim aktivitesini artırarak ve lipid peroksidasyonunu azaltarak, insülin direncini ve duyarlılığını iyileştirmiş olabileceği düşünülmektedir.

Katabolik bir hormon olan kortizol, ruminantların için birincil stres hormonudur. Sıcak stresi koşulları altında artan kortizol konsantrasyonu, buzağuların sıcaklıktan olumsuz etkilendiğini göstermektedir (López ve ark., 2018). Çalışmamızda günlük 50 ve 100 mg/kg canlı ağırlık dozunda ÜÇE takviyesinin yapıldığı gruplardaki buzağularda plazma kortizol konsantrasyonlarının azaldığı görülmüştür (Tablo 9 ve Şekil 22B). Kronik stres, aşırı reaktif oksijen türlerinin artmasına neden olarak nörodejenerasyona neden olmaktadır. Üzüm çekirdeği ekstraktının bir bileşeni olan kateşin ile düzenli tedavinin, nöroprotektif ve antioksidan etkileri sayesinde hipotalamik hipofiz adrenal eksen (HPA) aktivitesinin iyileştirilebileceği belirtilmiştir (Rai ve ark., 2019). Ayrıca polifenolik bileşiklerin kortizol üreten enzim olan 11 $\beta$ -hidroksisteroid dehidrojenaz tip 1'i inhibe edebileceği belirtilmiştir (Hintzpeter, Stapelfeld, Loerz, Martin, & Maser, 2014). Çalışmamız, kortizol konsantrasyonundaki düşüş sebebiyle, sıcak stresi altındaki buzağularda HPA eksenini iyileştirmede üzüm çekirdeği ekstraktının etkili olabileceğini göstermiştir.

Artan ALT ve AST enzimleri karaciğer hasarını göstermektedir (Hasona, & Morsi, 2019). AST ve ALT enzimlerinin sıcak stresine maruz kalma sırasında artabileceği belirtilmiştir (Gupta ve ark., 2013). Oksidatif strese maruz kalan kuzularda yapılan çalışmada üzüm çekirdeği proantosiyandinlerinin, ALT ve AST enzimlerini azaltarak karaciğer koruyucu etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Mu ve ark., 2020). Mevcut çalışmamızda ise 25 mg/kg canlı ağırlık dozunda ÜÇE takviyesi sıcak stresi altındaki buzağularda serum AST konsantrasyonunu düşürürken, daha yüksek miktarlarda ÜÇE takviyelerinin etkisi gözlenmemiştir (Tablo 9). Yang ve ark. (2017), etlik piliç rasyonlarına 30 mg/kg üzüm proantosiyandin ilavesinin ALT enzim seviyesini artırarak hepatosit toksisitesine neden olabileceğini göstermişlerdir.

HSP gen ekspresyonları sıcak stresi koşullarında artmaktadır. Artan Hsp70 geni, hücrelerde sıcak stresinin neden olduğu oksidatif hasarı azaltarak hücre korumasında aktif rol oynamaktadır. Kortizoldeki artışın, HSP'lerin hücresele seviyelerindeki artışına neden olabileceği düşünülmektedir (Chauhan ve ark., 2014c). Ayrıca leptin, Hsp70'in azalmasına neden olabilmektedir (Figueiredo ve ark., 2007). Hajati ve ark. (2015) ÜÇE takviyesinin, kronik sıcak stresi altındaki etlik piliçlerin karaciğer ve kalp dokularında Hsp70 gen ekspresyonunu azalttığını belirtmişlerdir. Mevcut çalışmamızda ÜÇE takviyesi, sıcak stresi altındaki buzağılarda leptin ve kortizol konsantrasyonlarını azaltmasına rağmen, plazma Hsp70 konsantrasyonunun değişmediği saptanmıştır (Tablo 9). Haptogloblin, doku hasarı ve enfeksiyona yanıt olarak hepatositlerden salınan bir akut faz proteinidir (Aleena ve ark., 2016). Bu çalışmada, sıcak stresi altındaki buzağılarda ÜÇE takviyesinin plazma haptogloblin konsantrasyonunu değiştirmedeği görülmüştür (Tablo 9).

Bu çalışmada sonuçlarımız ÜÇE takviyesinin sıcak stresi altındaki buzağılarda RBC sayısını, hemoglobin miktarını ve hematokrit yüzdesini arttırdığını göstermiştir (Şekil 23). Erken dönemde sıcak stresine maruz kalan buzağılarda eritrosit sayısı, hemoglobin miktarı ve hematokrit yüzdesinin düştüğü bildirilmiştir (Marrero ve ark., 2021). Bunun nedeni eritrosit yıkımı olabilmektedir. Çünkü serbest radikaller eritrosit zarına zarar vererek hemoglobin ve hematokrit değerlerinin düşmesine neden olabilmektedir (Srikandkumar, & Johnson, 2004). Buna karşılık, Haque ve ark. (2013) sıcak koşullarda artan oksijen ihtiyacını karşılamak için kandaki hemoglobin miktarının arttığını belirtmiştir. Mevcut çalışmamızda RBC sayısı ve hemoglobin miktarındaki artış, ÜÇE takviyesinin sıcak stresi altındaki buzağılarda hematopoietik progenitör gelişimini ve oksijen ihtiyacını karşılamak için hemoglobin miktarını arttırabileceğini göstermektedir (Tablo 10). Ayrıca hemoglobin ve RBC miktarındaki bu artışın, oksijen taşıma kapasitesinde ve antioksidan enzimlerin aktivitelerinde artışa işaret edebileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda, ÜÇE ilavesinin sıcak stresi altındaki buzağılarda nötrofil sayısını azalttığı ancak lenfosit sayısının etkilenmediği görülmüştür (Tablo 10). Hajati ve ark. (2018), üzüm çekirdeği ekstraktının sıcak stresi koşullarında etlik piliçlerde nötrofil sayısını azalttığını ve lenfosit sayısını ise arttırdığını

belirtmişlerdir. Sıcak stresi koşullarında, inflamasyonun bir sonucu olarak ve normal bir fizyolojik yanıt olarak WBC sayısı artabilmektedir (Morar ve ark., 2018). Bu artış genellikle nötrofil ve monositlerden kaynaklanırken, kronik sıcak stresinde lenfosit sayısının azalabileceği belirtilmektedir (Hosseini-Vashan ve ark., 2019). Çalışmamızda, nötrofil sayısındaki bu azalmanın, proinflamatuvar sitokin olan TNF- $\alpha$  konsantrasyonundaki azalma ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Çünkü TNF- $\alpha$ , nötrofiller tarafından salınmakta ve ayrıca nötrofillerin fagositozunu arttırmaktadır (Cai ve ark., 2020). Aynı zamanda bu çalışmada ÜÇE takviyesinin monosit sayısını arttırdığı tespit edilmiştir. Marrero ve ark. (2021), sıcak stresine maruz kalan buzağlarda eozinofil sayısının arttığını belirtmişlerdir. Mevcut çalışmamızda, ÜÇE takviyesi ile eozinofil sayısında artış şekillendiği gözlenmiştir. Bu artışın, üzüm çekirdeği ekstraktının alerjik reaksiyona neden olmasından ya da kortizolün azalmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Çünkü adrenal kortikosteroidlerin kan eozinofil düzeylerini baskılayabileceği belirtilmiştir (Ortega ve ark., 2019). Ayrıca çalışmamızda 50 mg/kg canlı ağırlık dozunda ÜÇE takviyesi trombosit miktarını azaltmıştır (Tablo 10). Benzer bir etki olarak Hasona & Morsi (2019), deksametazon ile indüklenen farelere oral yolla ÜÇE verilmesinin trombosit ve WBC miktarını azalttığını bildirmişlerdir. Bu azalma oksidatif stres ve inflamasyonun azalmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada 25 mg/kg canlı ağırlık dozunda ÜÇE takviyesinin fekal toplam UYA, asetat, propiyonat, bütirat ve valerat konsantrasyonlarını azalttığı belirlenmiştir (Tablo 11). Benzer şekilde Mu ve ark. (2021), üzüm çekirdeği prosiyanidinlerinin yüksek karbonhidratla beslenen kuzuların kolonik içeriğinde toplam VFA, asetat ve propiyonatu azalttığını bildirmişlerdir. Sıcak stresinin ince bağırsaklarda villus uzunluğunu, kript derinliğini, bağırsak duvar kalınlığını azaltarak ve bağırsak geçirgenliğini artırarak yapısal hasara neden olabileceği belirtilmektedir (Chen ve ark., 2015; Lambert, 2009). Polifenollerin çoğu karaciğerde metabolize edilmekte ve safra yoluyla glukuronidler olarak atılmaktadır. Ayrıca emilemeyen fenolik bileşikler ileal ve kolorektal lümende birikerek bağırsak mikrobiyotasını etkilemektedir (Tzounis ve ark., 2008). Üzüm çekirdeği polifenolleri, antimikrobiyal özellikleri sayesinde bağırsak bakteri popülasyonunu olumlu yönde değiştirebilmektedir. Ayrıca bağırsak mikrobiyotası, polifenolleri daha



biyoaktif bileşiklere metabolize edebilmektedir (Bustos ve ark., 2012). Ancak mevcut çalışmada, 100 mg/kg canlı ağırlık dozunda seviyesindeki ÜÇE takviyesi, sıcak stresi altındaki buzağuların dışkılarındaki toplam UYA, asetat, propiyonat, bütirat ve valerat konsantrasyonlarını arttırdığı görülmektedir (Şekil 25). Çalışmamızla benzer olarak Taladrid ve ark. (2021), üzüm prinası ekstraktının gastrointestinal fermantasyon sırasında asetik, bütirik, valerik, propiyonik ve izobütirik asitleri arttırdığını göstermişlerdir (Tablo 11). Xu ve ark. (2022), buzağuların başlangıç yemine üzüm çekirdeği ekstraktının bileşeni olan gallik asit ilavesinin fekal *Ruminococcaceae*, *Bacteroides* ve *Christensenellaceae* cinslerini arttırdığını belirtmişlerdir. *Bacteroides*, *Christensenellaceae* ve *Ruminococcaceae*'nin sırasıyla propiyonik asit, bütirat ve asetat üretimini arttırabileceği bilinmektedir (Flint, Bayer, Rincon, Lamed, & White, 2008; Jacobson ve ark., 2018). Çalışmamızda fekal propiyonat, bütirat ve asetat artışı, bu bakterilerin artışının neden olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca yapılan çalışmalar üzüm çekirdeği ve üzüm çekirdeği ekstraktının, ileal içerikte bulunan *Escherichia coli* ve *Streptococcus spp.* gibi zararlı mikroorganizmaları azalttığını ve *Lactobacillus spp.* gibi faydalı bakterileri artırdığını göstermiştir. (Abu Hafsa, & İbrahim, 2018; Ao, & Kim, 2020). Çalışmamızda fekal UYA miktarındaki artış, 100 mg/kg canlı ağırlık dozunda ÜÇE takviyesinin zararlı mikroorganizmaların üremesini engellediği ve sıcak stresi altındaki buzağuların bağırsaklarında besin maddelerinin faydalı bakteriler tarafından daha iyi kullanılmış olabileceğini düşündürmektedir (Tablo 11).

Yapılan bazı çalışmalarda buzağuların termoregülatör mekanizmalarının doğumdan hemen sonra tam olarak gelişmediği ve bu sebeple laktasyondaki ineklerden daha hassas oldukları belirtilmiştir (Bateman ve ark., 2012; Dado-Senn ve ark., 2020). Bunun aksine Kovács ve ark. (2020), buzağuların solunum sayısı ve rektal sıcaklık için üst kritik SNİ değerlerinin sırasıyla 82.4 ve 88.1 olduğunu, buzağuların aşırı ısı yükünü laktasyondaki ineklere göre daha iyi tolere ettiğini belirtmişlerdir. Çalışmamızda SNİ'ne bağlı olarak solunum sayısı ve rektal sıcaklığın arttığı, ancak SNİ değeri 85'i aştığında buzağuların solunum sayısının aniden arttığı gözlemlenmiştir. Mevcut sonuçlarımıza göre solunum sayısının, ÜÇE takviyesinin yapıldığı tüm gruplardaki buzağularda önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 26B). Ayrıca 50 mg/kg canlı ağırlık dozunda ÜÇE takviyesi yapılan grubun rektal

sıcaklığı, kontrol grubuna göre azalma eğilimi göstermiştir (Şekil 26A). Bulgularımızın aksine El-Damrawy (2014), sıcak stresine maruz kalan etlik piliçlerin rasyonuna 100 ve 200 mg/kg ÜÇE eklenmesinin, vücut ısısı ve solunum sayısını azaltmadığını bildirmiştir. Çalışmamızda solunum sayısındaki azalma, hücresel bazda antioksidan kapasitedeki artış ve reaktif oksijen türlerinin azalmasına, ayrıca hemoglobin ve RBC'deki artış nedeniyle oksijen taşıma kapasitesindeki artışa bağlı olabileceği düşünülmektedir. Reaktif oksijen türlerinin azalması, solunum zincirinin aktivasyonunu ve mitokondri hasarının iyileşmesini sağlamaktadır (Belhadj Slimen ve ark., 2016). ÜÇE2 grubunun rektal sıcaklığındaki azalma eğilimi, sitokin miktarındaki azalma ile açıklanabilir. Çünkü TNF- $\alpha$ 'nın beyindeki termoregülatör merkezleri etkileyerek ısı üretimine neden olduğu bilinmektedir (Dinarello, 1996). Bununla birlikte ÜÇE3 grubundaki buzağılarda rektal sıcaklığın düşmemesi, bu gruptaki buzağuların daha fazla yem tüketmiş olmasına bağlı olabilir, çünkü artan yem tüketimi metabolik ısı üretimini arttırmaktadır (Baumgard, & Rhoads, 2013).

Sonuç olarak, çalışmanın ilk 18 gününde 100 mg/kg canlı ağırlık dozunda ÜÇE takviyesinin buzağuların GCAA üzerinde olumsuz bir etkisi olmasına rağmen, özellikle ilk 48 günlük periyotta günlük 50 ve 100 mg/kg canlı ağırlık dozunda ÜÇE takviyesinin sıcak stresi altındaki buzağuların yem tüketimini ve GCAA'nı arttırdığı saptanmıştır. Günlük 50 ve 100 mg/kg canlı ağırlık dozunda ÜÇE takviyesinin, yem tüketimini baskılanmasında rol oynayan leptin ve stres belirteci olan kortizol hormonlarının konsantrasyonlarını azalttığı tespit edilmiştir. Tüm çalışma boyunca 100 mg/kg canlı ağırlık dozunda ÜÇE takviyesinin, ayrıca çalışmanın 63. gününde 50 mg/kg canlı ağırlık dozunda ÜÇE takviyesinin, sıcak stresi altındaki buzağılarda insülin düzeyini azaltarak glikoz intoleransının iyileşmesinde etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Çalışmada, ÜÇE takviyesinin yapıldığı tüm gruplardaki buzağılarda, plazma MDA konsantrasyonlarının azaldığı tespit edilmiştir. Ek olarak 100 mg/kg canlı ağırlık dozunda ÜÇE takviyesinin plazma TAK konsantrasyonunu arttırdığı gözlenirken, günlük 50 ve 100 mg/kg canlı ağırlık dozlarında ÜÇE takviyesinin plazma SOD konsantrasyonunu arttırarak sıcak stresi altındaki buzağuların antioksidan aktivitesi üzerinde olumlu etkiler yarattığı görülmüştür. Sıcak stresi altındaki buzağılarda yapılan bu çalışmada günlük 25, 50 ve 100 mg/kg canlı ağırlık

dozlarında ÜÇE takviyesinin TNF- $\alpha$  ve WBC konsantrasyonlarını, ayrıca 25 mg/kg canlı ağırlık dozunda ÜÇE takviyesinin IFN-y konsantrasyonunu azaltarak inflamasyon durumunun iyileşmesinde etkin rol oynadığı saptanmıştır. Çalışmada ÜÇE takviyesinin yapıldığı tüm gruplardaki buzağılarda hemoglobin, RBC ve hematokrit değerlerinin arttığı gözlenirken, bu gruplardaki buzağılarda solunum sayısının azalmasıyla sıcak stresi etkilerinin hafifletildiği görülmektedir. Ek olarak, 100 mg/kg canlı ağırlık dozunda ÜÇE takviyesinin, kolonik fermentasyonu teşvik ederek fekal uçucu yağ asitlerinin üretimini arttırdığı görülmüştür.

Tüm bu sonuçlar ele alındığında günlük 50 mg/kg canlı ağırlık dozunda ÜÇE takviyesinin, sıcak stresi altındaki buzağuların sağlık parametreleri ve performansları üzerinde faydalı etkiler yaratarak oksidatif stresin etkilerinin hafifletildiği sonucuna varılmıştır.

## 6. KAYNAKLAR

- Abeni, F., Calamari, L., & Stefanini, L. (2007). Metabolic conditions of lactating Friesian cows during the hot season in the Po valley. 1. Blood indicators of heat stress. *International Journal of Biometeorology*, 52, 87-96. <https://doi.org/10.1007/s00484-007-0097-4>.
- Abera, M., Yusuf Mammed, Y., Eshetu, M., Pilla, F., & Wondifraw, Z. (2021). Physiological, biochemical, and growth parameters of fogera cattle calves to heat stress during different seasons in sub-humid part of Ethiopia. *Animals*, 11(4), 1062. <https://doi.org/10.3390/ani11041062>
- Abu Hafsa, S. H., & Ibrahim, S. A. (2017). Effect of dietary polyphenol-rich grape seed on growth performance, antioxidant capacity and ileal microflora in broiler chicks. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 102(1), 268-275. <https://doi.org/10.1111/jpn.12688>.
- Akayezu, J. M., Linn, J. G., Otterby, D. E., Hansen, W. P., & Johnson, D. G. (1994). Evaluation of calf starters containing different amounts of crude protein for growth of Holstein calves. *Journal of Dairy Science*, 77, 1882-1889. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(94\)77130-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)77130-7).
- Alberghina, D., Piccione, G., Casella, S., Panzera, M., Morgante, M., & Ganesella, M. (2013). The effect of the season on some blood metabolites and haptoglobin in dairy cows during postpartum period. *Archives Animal Breeding*, 56, 354-359. <http://dx.doi.org/10.7482/0003-9438-56-035>.
- Aleena, J., Pragna, P., Archana, P. R., Sejian, V., Bagath, M., Krishnan, G., Manimaran, A., Beena, V., Kurien, E. K., Varma, G., & Bhatta, R. (2016). Significance of metabolic response in livestock for adapting to heat stress challenges. *Asian Journal of Animal Sciences*, 10, 224-234. <https://dx.doi.org/10.3923/ajas.2016.224.234>.
- Anderson, K. L., Nagaraja, T. G., Morrill, J. L., Avery, T. B., Galitzer, S. J., & Boyer, J. E. (1987). Ruminant microbial development in conventionally or early-weaned calves. *Journal of Animal Science*, 64, 1215-1226. <https://doi.org/10.2527/jas1987.6441215x>.
- Ao, X., & Kim, I. H. (2020). Effects of grape seed extract on performance, immunity, antioxidant capacity, and meat quality in Pekin ducks. *Poultry Science*, 99, 2078-2086. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.12.014>.
- Archana, P., Aleena, J., Pragna, P., Vidya, M., Niyas, A., Bagath, M., Krishnan, G., Manimaran, A., Beena, V., & Kurien, E. (2017). Role of heat shock proteins in livestock adaptation to heat stress. *Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research*, 5(1), 00127. <http://dx.doi.org/10.15406/jdvar.2017.05.00127>.

- Arora, A., Nair, M. G., Strasburg, G. M. (1998). Structure-activity relationships for antioxidant activities of a series of flavonoids in a liposomal system. *Free Radical Biology and Medicine*, 24, 1355–1363. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(97\)00458-9](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(97)00458-9).
- Arumugam, R., Horowitz, E., Noland, R. C., Lu, D., Fleenor, D., & Freemark, M. (2010). Regulation of islet b-cell pyruvate metabolism: interactions of prolactin, glucose, and dexamethasone. *Endocrinology*, 149, 5401–14. <https://doi.org/10.1210/en.2010-0049>.
- Avendano-Reyes, L., Alvarez-Valenzuela, F. D., Correa-Calderon, A., Algandar-Sandoval, A. & Rodriguez-Gonzalez, E. (2010). Comparison of three cooling management systems to reduce heat stress in lactating Holstein cows during hot and dry ambient conditions. *Livestock Science*, 132, 48-52. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.04.020>.
- Bach, A. (2012). Optimizing performance of the offspring: Nourishing and managing the dam and post-natal calf for optimal lactation, reproduction, and immunity. *Journal of Animal Science*, 90, 1835-1845. <https://doi.org/10.2527/jas.2011-4516>.
- Bach, A. (2021). A successful nutrition program in calf rearing. *6<sup>th</sup> National – 2<sup>nd</sup> International Herd Health and Management E-Congress*, pp, 30-34.
- Bach, A., Ahedo, J., & Ferrer, A. (2010). Optimizing weaning strategies of dairy replacement calves. *Journal of Dairy Science*, 93, 413-419. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2682>.
- Bach, A., Domingo, L., Montoro, C., & Terré, M. (2013a). Short communication: Insulin responsiveness is affected by the level of milk replacer offered to young calves. *Journal of Dairy Science*, 96, 4634–4637. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6196>.
- Bach, A., Khan, M. A., & Miller-Cushon, E. K. (2017). Managing and feeding the calf through weaning. In: Large Dairy Herd Management. 3rd Edition. Ed. D. Beede. *American Dairy Science Association*. pp 421-430.
- Bach, A., Terré, M., & Pinto, A. (2013b). Performance and health responses of dairy calves offered different milk replacer allowances. *Journal of Dairy Science*, 96, 7790–7797. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6909>.
- Baile, C. A., & Forbes, J. M. (1974). Control of feed intake and regulation of energy balance in ruminants. *Physiological Reviews*, 54(1), 160. <https://doi.org/10.1152/physrev.1974.54.1.160>.
- Bakony, M., Kiss, G., & Jurkovich, V. (2019) The effect of hutch orientation on primary heat stress responses of dairy calves. In Wickens S, Hubrecht R and Golledge H (Eds) *Advancing Animal Welfare Science: How Do We Get There?*

– Who Is It Good For? Proceedings of UFAW International Animal Welfare Science Symposium, Bruges, Belgium, UFAW, Wheathampsterad, UK p. 52.

- Banerjee, D., Upadhyay, R. C., Chaudhary, U. B., Kumar, R., Singh, S., Ashutosh Das, T. K., & De, S. (2015). Seasonal variations in physio-biochemical profiles of Indian goats in the paradigm of hot and cold climate. *Biological Rhythm Research*, 46, 221–236. <https://doi.org/10.1080/09291016.2014.984999>.
- Bateman, H. G., Hill, T. M., Aldrich, J. M., Schlotterbeck, R. L., & Firkins, J. L. (2012). Meta-analysis of the effect of initial serum protein concentration and empirical prediction model for growth of neonatal Holstein calves through 8 weeks of age. *Journal of Dairy Science*, 95, 363–369. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4594>.
- Baumgard, L. H., & Rhoads, R. P. (2007). The effects of hyperthermia on nutrient partitioning. *Proceedings of the Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers*, <https://www.sid.ir/En/Journal/ViewPaper.aspx?ID=352520>.
- Baumgard, L. H., & Rhoads, R. P. (2012). Ruminant nutrition symposium: ruminant production and metabolic responses to heat stress. *Journal of Animal Science*, 90, 1855–1865. <https://doi.org/10.2527/jas.2011-4675>
- Baumgard, L. H., & Rhoads, R. P. (2013). Effects of heat stress on postabsorptive metabolism and energetics. *Annual Review of Animal Biosciences*, 1, 311–337. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-031412-103644>.
- Beiranvand, H., Khani, M., Omidian, S., Ariana, M., Rezvani, R., & Ghaffari, M. H. (2016) Does adding water to dry calf starter improve performance during summer? *Journal of Dairy Science*, 99, 1903–1911. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10004>.
- Belhadj Slimen, I., Najar, T., Ghram, A., & Abdrrabba, M. (2016). Heat stress effects on livestock: molecular, cellular and metabolic aspects, a review. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 100(3), 401–12. <https://doi.org/10.1111/jpn.12379>.
- Benjamin, M. M. (1978) Fluid and electrolytes. In: *Outline of Veterinary Clinical Pathology*. Iowa State Univ. Press, Ames. p 213.
- Ben-Jonathan, N., Hugo, E. R., Brandebourg, T. D., & LaPensee, C. R. (2006). Focus on prolactin as a metabolic hormone. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 17, 110–16. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2006.02.005>.
- Berman, A. (2006). Extending the potential of evaporative cooling for heatstress relief. *Journal of Dairy Science*, 89, 3817–3825. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(06\)72423-7](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(06)72423-7).
- Berman, A. (2019) An overview of heat stress relief with global warming in perspective. *International Journal of Biometeorology*, 63, 493–498. <https://doi.org/10.1007/s00484-019-01680-7>.

- Berman, A., Horovitz, T., Kaim, M., & Gacitua, H. (2016). A comparison of THI indices leads to a sensible heat-based heat stress index for shaded cattle that aligns temperature and humidity stress. *International Journal of Biometeorology*, 60(10), 1453-1462. <https://doi.org/10.1007/s00484-016-1136-9>.
- Bernabucci, U., Bani, P., Ronchi, B., Lacetera, N., & Nardone, A. (1999). Influence of short and long-term exposure to a hot environment on rumen passage rate and diet digestibility by Friesian heifers. *Journal of Dairy Science*, 82(5), 967-73. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(99\)75316-6](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(99)75316-6).
- Bernabucci, U., Lacetera, N., Baumgard, L.H., Rhoads, R.P., Ronchi, B., & Nardone, A. (2010). Metabolic and hormonal acclimation to heat stress in domesticated ruminants. *Animal*, 4, 1167-1183. <https://doi.org/10.1017/s175173111000090x>.
- Bernabucci, U., Rancho, B., Lacetera, N., & Nardone, A. (2002). Markers of oxidative status in plasma and erythrocytes of transition dairy cows during hot season. *Journal of Dairy Science*, 85, 2173-2179. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(02\)74296-3](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(02)74296-3).
- Bertagnon, H. G., Esper, G. V. Z., Emanuelli, M. P., & Pellegrine, L. G. (2011). Meteorologic influence on leucogram and cytology in the respiratory tract of healthy calves. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 31, 244-246. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2011000300010>.
- Bianca, W. (1962). Relative importance of dry- and wet-bulb temperatures in causing heat stress in cattle. *Nature*, 195, 251-252.
- Binsiya, T. K., Sejian, V., Bagath, M., Krishnan, G., Hyder, I., Manimaran, A., Lees, A. M., Gaughan, J. B., & Bhatta, R. (2017). Significance of hypothalamic-pituitary-adrenal axis to adapt to climate change in livestock. *International Research Journal of Agricultural and Food Sciences*, 2, 1-20.
- Bjarnason, I., Williams, P., Smethurst, P., Peters, T. J., & Levi, A. J. (1986). Effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs and prostaglandins on the permeability of the human small intestine. *Gut*, 27, 1292-1297. <https://dx.doi.org/10.1136%2Fgut.27.11.1292>.
- Blair, S. J. (2015). *Effects of milk replacer and multivitamin-mineral supplementation on performance of heat stressed dairy calves*. Louisiana State University. Erişim adresi: [https://digitalcommons.lsu.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=3746&context=grads\\_chool\\_theses](https://digitalcommons.lsu.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=3746&context=grads_chool_theses).
- Bordignon, R., Volpato, A., Glombowsky, P., Souza, C.F., Baldissera, M. D., Secco, R., Pereira, W. A. B., Leal, M. L. R., Vedovatto, M., & Da Silva, A. S. (2019). Nutraceutical effect of vitamins and minerals on performance and immune and antioxidant systems in dairy calves during the nutritional transition period in summer. *Journal of Thermal Biology*, 84, 451 - 459. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2019.07.034>.

- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Journal of Food Science and Technology*, 28, 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).
- Brenes, A., Viveros, A., Chamorro, S., & Arija, I. (2016). Use of polyphenol-rich grape by-products in monogastric nutrition. *Animal Feed Science and Technology*, 211, 1-17. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.09.016>.
- Brenes, A., Viveros, A., Goni, I., Centeno, C., Saura-Calixto, F., & Arija, I. (2010). Effect of grape seed extract on growth performance, protein and polyphenol digestibilities, and antioxidant activity in chickens. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 8, 326–333. <https://doi.org/10.5424/sjar/2010082-1199>.
- Brenes, A., Viveros, A., Goni, I., Centeno, C., Sayago-Ayerdi, S.G., Arija, I. (2008). Effect of grape pomace concentrate and vitamin E on digestibility of polyphenols and antioxidant activity in chickens. *Poultry Science*, 87, 307-316. <https://doi.org/10.3382/ps.2007-00297>.
- Broucek, J., Kisac, P., & Uhrincat, M. (2009) Effect of hot temperatures on the hematological parameters, health and performance of calves. *International Journal of Biometeorology*, 53, 201–208. <https://doi.org/10.1007/s00484-008-0204-1>.
- Bustos, I., Garcia-Cayuela, T., Hernandez-Ledesma, B., Pelaez, C., Requena, T., & Martinez-Cuesta, M. C. (2012). Effect of flavan-3-ols on the adhesion of potential probiotic Lactobacilli to intestinal cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 9082-9088. <https://doi.org/10.1021/jf301133g>.
- Cai, L., Li, Y. P., Wei, Z. X., Li, X. L., & Jiang, X. R. (2020). Effects of dietary gallic acid on growth performance, diarrhea incidence, intestinal morphology, plasma antioxidant indices, and immune response in weaned piglets. *Animal Feed Science and Technology*, 261, 114391. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114391>.
- Campos, L. M. A. S., Leimann, F. V., Pedrosa, R. C., & Ferreira, S. R. S. (2008). Free radical scavenging of grape pomace extracts from Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera*). *Bioresource Technology*, 99, 8413–8413. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.02.058>.
- Carpenter, R., O'Grady, M. N., O'Callaghan, Y. C., O'Brien, N. M., & Kerry, J. P. (2007). Evaluation of the antioxidant potential of grape seed and bearberry extracts in raw and cooked pork. *Meat Science*, 76(4), 604-610. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.01.021>.
- Castells, L., Bach, A., Araujo, G., Montoro, C., & Terré, M. (2012). Effect of different forage sources on performance and feeding behavior of Holstein calves. *Journal of Dairy Science*, 95, 286–293. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4405>.
- Castells, L., Bach, A., Aris, A., & Terré, M. (2013). Effects of forage provision to young calves on rumen fermentation and development of the gastrointestinal



- tract. *Journal of Dairy Science*, 96, 5226–5236. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6419>.
- Catalani, E. B., Amadori, M., Vital, A., Bernabucci, U., Nardone, A., & Lacetera, N. (2010). The Hsp72 response in peri-parturient dairy cows: relationships with metabolic and immunological parameters. *Cell Stress Chaperon*, 15, 781–790. <https://doi.org/10.1007/s12192-010-0186-x>.
- Celi, P. (2011). Biomarkers of oxidative stress in ruminant medicine. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 33, 233–240. <https://doi.org/10.3109/08923973.2010.514917>.
- Chafer, A., Pascual-Martí, M. C., Salvador, A., & Berna, A. (2005). Supercritical fluid extraction and HPLC determination of relevant polyphenolic compounds in grape skin. *Journal of Separation Science*, 28(16), 2050–6. <https://doi.org/10.1002/jssc.200500128>.
- Chamorro, S., Goñi, I., Viveros, A., Hervert-Hernández, D., & Brenes A. (2012). Changes in polyphenolic content and antioxidant activity after thermal treatments of grape seed extract and grape pomace. *European Food Research and Technology*, 234, 147–155. <http://dx.doi.org/10.1007/s00217-011-1621-7>.
- Chamorro, S., Viveros, A., Rebolé, A., Rica, A., Arija, B. D., & Brenes, A. A. (2015). Influence of dietary enzyme addition on polyphenol utilization and meat lipid oxidation of chicks fed grape pomace. *Food Research International*, 73, 197–203. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.11.054>.
- Chaudhary, S. S., Singh, V. K., Upadhyay, R. C., Puri, G., Odedara, A. B., & Patel, P. A. (2015). Evaluation of physiological and biochemical responses in different seasons in Surti buffaloes. *Veterinary World*, 8, 727–731. <https://dx.doi.org/10.14202/vetworld.2015.727-731>.
- Chauhan, S. S., Celi, P., Fahri, F. T., Leury, B. J., & Dunshea, F. R. (2014c). Dietary antioxidants at supranutritional doses modulate skeletal muscle heat shock protein and inflammatory gene expression in sheep exposed to heat stress. *Journal of Animal Science*, 92(11), 4897–4908. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-8047>.
- Chauhan, S. S., Celi, P., Leury, B. J., Clarke, I. J., & Dunshea, F. R. (2014a). Dietary antioxidants at supranutritional doses improve oxidative status and reduce the negative effects of heat stress in sheep. *Journal of Animal Science*. 92, 3364–3374.
- Chen, Z., Xie, J., Hu, M., Tang, J., Shao, Z., & Li, M. (2015). Protective effects of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) on the small intestinal mucosa in heat-stressed Wenchang chicken. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 25, 78–87.
- Cho, S., Mbiriri, D. T., Shim, K., Lee, A. L., Oh, S. J., Yang, J., Ryu, C., Kim, Y. H., Seo, K. S., Chae, J. I., Oh, Y. K., & Choi, N. J. (2014) The influence of feed energy density and a formulated additive on rumen and rectal temperature in Hanwoo steers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 27, 1652–1662. <https://doi.org/10.5713/ajas.2014.14562>.

- Cilla, A., Gonzalez-Sarrias, A., Tomas-Barberan, F. A., Espin, J. C., & Barbera, R. (2009). Availability of polyphenols in fruit beverages subjected to *in vitro* gastrointestinal digestion and their effects on proliferation, cell-cycle and apoptosis in human colon cancer Caco-2 cells. *Food Chemistry*, 114, 813–820. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.10.019>.
- Cohen-Zinder, M., Weinberg, Z., Leibovich, H., Chen, Y., Rosen, M., Sagi, G., Orlov, A., Agmon, R., Yishay, M., Miron, J., & Shabtay, A. (2017). Ensiled *Moringa oleifera*: an antioxidant-rich feed that improves dairy cattle performance. *Journal of Agricultural Science*, 155, 1174–1186. <https://doi.org/10.1017/S0021859617000387>.
- Collier, R., Collier, J., Rhoads, R., & Baumgard, L. (2008). Invited review: genes involved in the Bovine heat stress response<sup>1</sup>. *Journal of Dairy Science*, 91, 445–454. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0540>.
- Collier, R. J., Gebremedhin, K., Macko, A. R., & Roy, K. S. (2012). Genes involved in the thermal tolerance of livestock. In *Environmental stress and amelioration in livestock production* pp. 379–410. Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg/New York, NY, USA.
- Collier, R. J., Hall, L. W., Rungruang, S., & Zimbleman, R. B. (2012) Quantifying heat stress and its impact on metabolism and performance. Proceedings of ‘23rd Annual Ruminant Nutrient Symposium’, Florida.
- Costa, J. H. C., Meagher, R. K., von Keyserlingk, M. A. G., & Weary, D. M. (2015). Early pair housing increases solid feed intake and weight gains in dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 98, 6381–6386. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9395>.
- Crozier, A. (2003). Classification and biosynthesis of secondary plant products: an overview G. Goldberg (Ed.), *Plants: Diet and Health*, Chapman and Hall, London pp. 27-48.
- Curtis, A. K., Scharf, B., Eichen, P. A., & Spiers, D. E. (2017). Relationships between ambient conditions, thermal status, and feed intake of cattle during summer heat stress with access to shade. *Journal of Thermal Biology*, 63, 104–111. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2016.11.015>.
- Çakır, T., Aslaner, A., Özgür, S., Güneş, K., Kinaci, E., Doğan, U., Tekeli, F., Akyüz, C., Koç, S., & Yılmaz, N. (2016). Grape seed protects cholestatic rats liver from ischemia/reperfusion injury. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 31 (3). <https://doi.org/10.1590/s0102-865020160030000006>.
- Dado-Senn, B., Dahl, G. E., & Laporta, J. (2019). How Are Cows Cooled on Dairy Farms in Florida? <http://dx.doi.org/10.32473/edis-an355-2019>.
- Dado-Senn, B., Ouellet, V., Dahl, G. E., & Laporta, J. (2020). Methods for assessing heat stress in preweaned dairy calves exposed to chronic heat stress or

- continuous cooling. *Journal of Dairy Science*, 103(9), 8587-8600. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18381>.
- Dado-Senn, B., Vega Acosta, L., Torres Rivera, M., Field, S. L., Marrero, M. G., Davidson, B. D., Tao, S., Fabris, T. F., Ortiz-Colón, G., Dahl G. E., & Laporta, J. (2020). Pre- and postnatal heat stress abatement affects dairy calf thermoregulation and performance. *Journal of Dairy Science*, 103(5), 4822-4837. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17926>.
- Dahl, G. E., Tao, S., & Monteiro, A. P. A. (2016). Effects of late-gestation heat stress on immunity and performance of calves. *Journal of Dairy Science*, 99, 3193–3198. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9990>.
- Das, H., Lateef, A., Panchasara, H. H., Sanap, M. J., Nilufar, H., & Parsani, H. R. (2014). Seasonal effect on blood biochemical parameters in Kankrej cattle at different level of their productivity. *Indian Journal of Veterinary Sciences and Biotechnology*, 9(04), 12–16.
- Das, R., Sailo, L., Verma, N., Bharti, P., Saikia, J., Imtiwati, & Kumar, R. (2016). Impact of heat stress on health and performance of dairy animals: a review. *Veterinary World*, 9, 260–268. <https://dx.doi.org/10.14202%2Fvetworld.2016.260-268>.
- Davis, C. L., & Drackley, J. K. (1998). *The development, nutrition, and management of the young calf*. Iowa State University Press, Ames, Iowa.
- De Sousa, P., & Pedersen, S. (2004). Ammonia emission from fattening pig houses in relation to animal activity and carbon dioxide production. *International Commission of Agricultural Engineering*, <https://hdl.handle.net/1813/10379>.
- Di Giacomo, K., Warner, R. D., Leury, B. J., Gaughan, J. B., & Dunshea, F.R. (2014). Dietary betaine supplementation has energy sparing effects in feedlot cattle during summer, particularly in those without access to shade. *Animal Production Science*, 54, 450–458. <http://dx.doi.org/10.1071/AN13418>.
- Dikmen, S., Alava, E., Pontes, E., Fear, J. M., Dikmen, B.Y., Olson, T. A., & Hansen, P. J. (2008). Differences in thermoregulatory ability between slick-haired and wild-type lactating Holstein cows in response to acute heat stress. *Journal of Dairy Science*, 91, 1-8. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1072>.
- Dikmen, S., & Hansen, P. J. (2009). Is the temperature-humidity index the best indicator of heat stress in lactating dairy cows in a subtropical environment? *Journal of Dairy Science*, 92, 109-116. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1370>.
- Dinareello, C. A. (1996). Thermoregulation and the pathogenesis of fever. *Infectious Disease Clinics of North America*, 10, 433–449. [https://doi.org/10.1016/S0891-5520\(05\)70306-8](https://doi.org/10.1016/S0891-5520(05)70306-8).
- Dinçel, D., & Dikmen, S. (2013). Süt sığırlarında sıcak stresinin tespiti, verim üzerine etkileri ve korunma yöntemleri. *Bursa Uludag University Journal of*

*Faculty of Veterinary Medicine*, 32(1), 19-29. Erişim adresi: <https://dergipark.org.tr/tr/pub/uluvfd/issue/13516/163495>.

- Donovan, G. A., Badinga, L., Collier, R. J., Wilcox, C. J., & Braun, R. K. (1986). Factors influencing passive transfer in dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 69, 754–759. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(86\)80464-7](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(86)80464-7).
- Dorri, S., Tabeidian, A. S., Toghyani, M., Jaha-nian, R., & Behnamnejad, F. (2012). Effect of different levels of grape pomace on blood serum and biochemical parameters of broiler chicks at 29 and 49 days of age. Proc. 11th Int. and 4th Natl. Congress on Recycling of Organic Waste in Agriculture. Isfahan, Iran. Erişim adresi: <https://en.civilica.com/doc/179055/>.
- Dulundu, E., Ozel, Y., Topaloglu, U., Toklu, H., Ercan, F., Gedik, N., & Sener, G. (2007). Grape seed extract reduces oxidative stress and fibrosis in experimental biliary obstruction. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 22, 885-92. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.2007.04875.x>.
- El-Damrawy, S. Z. (2014). Effect of grape seed extract on some physiological changes in broilers under heat stress. *Egyptian Poultry Science Journal*, 34, 333–343. <https://dx.doi.org/10.21608/epsj.2014.5319>.
- El-Nouty, F. D., Elbanna, I. M., Davis, T. P., & Johnson, H. D. (1980). Aldosterone and ADH response to heat and dehydration in cattle. *Journal of Applied Physiology*, 48: 249-255. <https://doi.org/10.1152/jappl.1980.48.2.249>.
- Elstner, E. F., (1991). Oxygen radicals- Biochemical basis for their efficacy. *Klinische Wochenschrift*, 69, 949–956. <https://doi.org/10.1007/bf01645138>.
- FAO (Food and Agriculture Organization). (2013). Electronic database of the Food and Agriculture Organization. Erişim adresi <http://faostat.fao.org/>.
- FAO (Food and Agriculture Organization). (2020). Biannual Report on Global Food Markets. Erişim adresi: <https://www.fao.org/3/cb1993en/CB1993EN.pdf>.
- Farooq, U., Ahmad, N., Ahmad, I., Mahmood, S. A., Andrabi, S. M. H., & Idris, M. (2017). Effect of seasonal variations on the haemato chemical profile of Cholistani service bulls. *Journal of Applied Animal Research*, 45, 85–89. <https://doi.org/10.1080/09712119.2015.1125351>.
- Fernandes, L., Casal, S., Cruz, R., Pereira, J. A., & Ramalhosa, E. (2013). Seed oils of ten traditional Portuguese grape varieties with interesting chemical and antioxidant properties. *Food Research International*, 50(1), 161-166. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.09.039>.
- Figueiredo, D., Gertler, A., Cabello, G., Decuypere, E., Buyse, J., & Dridi, S., (2007). Leptin downregulates heat shock protein-70 (HSP-70) gene expression in chicken liver and hypothalamus. *Cell Tissue Research*. 329, 91–101. <https://doi.org/10.1007/s00441-007-0414-6>.

- Flickinger, E. A., Van Loo, J., & Fahey, G. C. (2003). Nutritional responses to the presence of inulin and oligofructose in the diets of domesticated animals: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43, 19-60. <https://doi.org/10.1080/10408690390826446>.
- Flint, H. J., Bayer, E. A., Rincon, M. T., Lamed, R., & White, B. A. (2008). Polysaccharide utilization by gut bacteria: Potential for new insights from genomic analysis. *Nature Reviews Microbiology*, 6, 121–131. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1817>.
- Foizik, K., Langan, E. A., & Paus, R. (2009). Prolactin and the skin: a dermatological perspective on an ancient pleiotropic peptide hormone. *Journal of Investigative Dermatology*, 129, 141–47. <https://doi.org/10.1038/jid.2008.348>.
- Food and Agriculture Organization (FAO). (2013). Electronic database of the Food and Agriculture Organization. Erişim adresi <http://faostat.fao.org/>.
- Food and Agriculture Organization (FAO). (2020). Biannual Report on Global Food Markets. Erişim adresi: <https://www.fao.org/3/cb1993en/CB1993EN.pdf>.
- Foti, M., Piatelli, M., Amico, V., & Ruberto, G. (1994). Antioxidant activity of phenolic meroditerpenoids from marine algae. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 26, 159-164.
- Fujimoto, M., & Nakai, A. (2010). The heat shock factor family and adaptation to proteotoxic stress. *FEBS Journal*, 277, 4112–4125. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2010.07827.x>
- Ganaie, A.H., Shanker, G., Bumla N. A., Ghasura, R. S., Mir, N. A., Wani, S. A., & Dudhatra, G.B. (2013). Biochemical and physiological changes during thermal stress in bovines. *Journal of Veterinary Science & Technology*, 4, 1-6. <http://dx.doi.org/10.4172/2157-7579.1000126>.
- García-Fernández, M., Delgado, G., Puche, J. E., González-Barón, S., & Castilla, C. I. (2008). Low doses of insulin-like growth factor I improve insulin resistance, lipid metabolism, and oxidative damage in aging rats. *Endocrinology*, 149(5), 2433-42. <https://doi.org/10.1210/en.2007-1190>.
- Geiger, A. J., Parsons, C. L. M., James, R. E., & Akers, R. M. (2016). Growth, intake, and health of Holstein heifer calves fed an enhanced preweaning diet with or without postweaning exogenous estrogen. *Journal of Dairy Science*, 99, 3995–4004. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10405>.
- Gelsinger, S. L., Heinrichs, A. J., & Jones, C. M. (2016). A meta-analysis of the effects of preweaned calf nutrition and growth on first-lactation performance1. *Journal of Dairy Science*, 99, 6206–6214. doi:10.3168/jds.2015-10744.
- Guerrero, R. F., Liazid, A., Palma, M., Puertas, B., Gonzalez-Barrio, R., Gil-Izquierdo, A., Garcia-Barroso, C., & Cantos-Villar, E. (2009). Phenolic

- characterisation of red grapes autochthonous to Andalusia. *Food Chemistry*, 112, 949–955. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.014>.
- Gu, Z., Yang, S., Leng, J., Xu, S., Tang, S., Liu, C., Gao, Y., & Mao, H. (2016) Impacts of shade on physiological and behavioural pattern of Dehong buffalo calves under high temperature. *Applied Animal Behaviour Science*, 177, 1–5. <http://dx.doi.org/10.1016/j.applanim.2016.01.024>.
- Gupta, M., Kumar, S., Dangi, S. S., & Jangir, B. L. (2013). Physiological, biochemical and molecular responses to thermal stress in goats. *International Journal of Livestock Research*, 3, 27–38. <https://dx.doi.org/10.5455/ijlr.20130502081121>.
- Hajati, H., Hassanabadi, A., Golian, A., Nassiri-Moghaddam, H., & Nassiri, M. R. (2015). The effect of grape seed extract and vitamin c feed supplementation on some blood parameters and hsp70 gene expression of broiler chickens suffering from chronic heat stress. *Italian Journal of Animal Science*, 14(3), 3273. <https://doi.org/10.4081/ijas.2014.3273>.
- Hajati H, Hassanabadi, A., Golian, A., Nassiri-Moghaddam, H., & Nassiri, M. R. (2018). The effect of grape seed extract supplementation on performance, antioxidant enzyme activity, and immune responses in broiler chickens exposed to chronic heat stress. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 8(1), 109-117.
- Hales, J. R. S., Bell, A. W., Fawcett, A. A., & King, R. B. (1984). Redistribution of cardiac output and skin AVA activity in sheep during exercise and heat stress. *Journal of Thermal Biology*, 9, 113– 116. doi:10.1016/0306-4565(84)90048-2.
- Hall, M. B. (2009). Heat stress alters ruminal fermentation and digesta characteristics, and behavior in lactating dairy cattle. In: Chilliard, Y., Glasser, F., Faulconnier, Y., Bocquier, F., Veissier, I. and Doreau, M., editors. *Proceeding of 11th International Symposium on Ruminant Physiology*. Wageningen Academic Publication, Wageningen, The Netherlands. pp 204.
- Hall, D. M., Buettner, G. R., Oberley, L. W., Xu, L., Matthes, R. D., & Gisolfi C. V. (2001). Mechanisms of circulatory and intestinal barrier dysfunction during whole body hyperthermia. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 280(2), H509-21. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.2001.280.2.h509>.
- Hansen, P., & Areéchiga, C. (1999). Strategies for managing reproduction in the heatstressed dairy cow. *Journal of Animal Science*, 77(suppl\_2), 36–50. [https://doi.org/10.2527/1997.77suppl\\_236x](https://doi.org/10.2527/1997.77suppl_236x).
- Hao, R., Li, Q., Zhao, J., Li, H., Wang, W., & Gao, J. (2015). Effects of grape seed procyanidins on growth performance, immune function and antioxidant capacity in weaned piglets. *Livestock Science*, 178, 237–242. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.06.004>.

- Haque, N., Ludri, A., Hossain, S. A. & Ashutosh, M. (2013). Impact on hematological parameters in young and adult Murrah buffaloes exposed to acute heat stress. *Buffalo Bulletin* 3, 321–326.
- Hasona, N., & Morsi, A. (2019). Grape seed extract alleviates dexamethasone-induced hyperlipidemia, lipid peroxidation, and hematological alteration in rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 34(2), 213–218. <https://doi.org/10.1007/s12291-018-0736-z>.
- Hassan, R., Ebeid, T., Abd El-Lateif, A., & Ismail, N. (2011). Effect of dietary betaine supplementation on growth, carcass and immunity of New Zealand White rabbits under high ambient temperature. *Livestock Science*, 135, 103-109. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.06.132>.
- Hassan, F. A., Mahrose, K. M., & Basyony, M. M. (2016). Effects of grape seed extract as a natural antioxidant on growth performance, carcass characteristics and antioxidant status of rabbits during heat stress. *Archives of Animal Nutrition*, 70(2), 141-154. <https://doi.org/10.1080/1745039x.2016.1139609>.
- Hefnawy A. E. G., & Tórtora-Pérez, J. L. (2010). The importance of selenium and the effects of its deficiency in animal health. *Small Ruminant Research*, 89 (2–3), 185-192. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2009.12.042>.
- Heinrichs, A. J., & Heinrichs, B. S. (2011). A prospective study of calf factors affecting first-lactation and lifetime milk production and age of cows when removed from the herd. *Journal of Dairy Science*, 94, 336–341. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3170>.
- Heinrichs, A. J., Heinrichs, B. S., Harel, O., Rogers, G. W., & Place, N. T. (2005) A prospective study of calf factors affecting age, body size, and body condition score at first lactation. *Journal of Dairy Science*, 88, 2828–2835. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(05\)72963-5](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(05)72963-5).
- Henle, K. J., & Leeper, D. B. (1979). Effects of hyperthermia (45 degrees) on macromolecular synthesis in Chinese hamster ovary cells. *Cancer Research*, 39:2665–2674.
- Henry, B. K., Eckard, R. J., & Beauchemin, K. A. (2018) Review: adaptation of ruminant livestock production systems to climate changes. *Animal*. 12, 445–456. <https://doi.org/10.1017/s1751731118001301>.
- Herbut, P., Angrecka, S., & Nawalany, G. (2013). Influence of wind on air movement in a free stall barn during the summer period. *Annals of Animal Science*, 13(1), 109– 119. <http://dx.doi.org/10.2478/v10220-012-0063-x>.
- Hill, T. M., Bateman, H. G., Aldrich, J. M., & Schlotterbeck, R. L. (2011). Comparisons of housing, bedding, and cooling options for dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 94, 2138–2146. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3841>.

- Hintzpeter, J., Stapelfeld, C., Loerz, C., Martin, H. J., & Maser, E. (2014). Green tea and one of its constituents, epigallocatechine-3-gallate, are potent inhibitors of human 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1. *PLoS ONE*, 9(1), e84468. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084468>.
- Horowitz, M. (2002). From molecular and cellular to integrative heat defense during exposure to chronic heat. *Comparative Biochemistry & Physiology*, 131(3), 475–483. [https://doi.org/10.1016/s1095-6433\(01\)00500-1](https://doi.org/10.1016/s1095-6433(01)00500-1).
- Hosseini-Vashana, S. J., Safdari-Rostamabada, M., Pirayb A. H., & Sarir, H. (2019). The growth performance, plasma biochemistry indices, immune system, antioxidant status, and intestinal morphology of heat stressed broiler chickens fed grape (*Vitis vinifera*) pomace. *Animal Feed Science and Technology*, 259, 114343. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.114343>.
- Hossein Yazdi, M., Mirzaei-Alamouti, H. R., Amanlou, H., Mahjoubi, E., Nabipour, A., Aghaziarati, N., & Baumgard, L. H. (2016). Effects of heat stress on metabolism, digestibility, and rumen epithelial characteristics in growing Holstein calves. *Journal of Animal Science*, 94(1), 77-89. <https://doi.org/10.2527/jas.2015-9364>.
- Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). (2007) Climate Change: Synthesis Report. Available from: [http://www.ipcc.ch/pdf/assessment\\_report/ar4/syr/ar4\\_syr\\_sym.pdt](http://www.ipcc.ch/pdf/assessment_report/ar4/syr/ar4_syr_sym.pdt). Accessed on 28-11-2015.
- Jacobson, A., Lam, L., Rajendram, M., Tamburini, F., Honeycutt, J., Pham, T., Van Treuren, W., Pruss, K., Stabler, S. R, Lugo, K., Bouley, D. M., Vilches-Moure, J. G., Smith, M., Sonnenburg, J. L., Bhatt, A. S, Huang, K. C., & Monack, D., (2018). A gut commensal-produced metabolite mediates colonization resistance to *Salmonella* infection. *Cell Host & Microbe*, 24, 296–307. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2018.07.002>.
- Jensen, M. B., Duve, L. R., & Weary, D. M. (2015). Pair housing and enhanced milk allowance increase play behavior and improve performance in dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 98, 2568–2575. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8272>.
- Jiang, Z. Y., Sun, L. H., Lin, Y. C., Ma, X. Y., Zheng, C. T., Zhou, G. L., Chen, F., & Zou, S. T. (2009). Effects of dietary glycyl-glutamine on growth performance, small intestine integrity, and immune responses of weaning piglets challenges with lipopolysaccharide. *Journal of Animal Science*, 87, 4050-4056. <https://doi.org/10.2527/jas.2008-1120>.
- Johnson, J. S., & Lay, D. C. (2017). Evaluating the behavior, growth performance, immune parameters, and intestinal morphology of weaned piglets after simulated transport and heat stress when antibiotics are eliminated from the starter diet or replaced with L glutamine. *Journal of Animal Science*, 95, 91-102. doi: 10.2527/jas2016.107.



- Joshi, B. C., & Tripathy, K. C. (1991). Heat stress effect on weight gain and related physiological responses of buffalo calves. *Journal of Veterinary Physiology & Allied Science*, 10, 43-48.
- Kadzere, C. T., Murphy, M. R., Silanikove, N., & Maltz, E. (2002). Heat stress in lactating dairy cows: a review. *Livestock Production Science*, 77(1), 59–91. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(01\)00330-X](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(01)00330-X).
- Kaliber, M., Koluman, N., & Silanikove, N. (2016). Physiological and behavioral basis for the successful adaptation of goats to severe water restriction under hot environmental conditions. *Animal*, 10, 82–88. <https://doi.org/10.1017/s1751731115001652>.
- Kamal, R., Dutt, T., Patel, M., Dey, A., Chandran, P. C., Bharti, P. K., & Barari, S. K. (2016). Behavioural, biochemical and hormonal responses of heatstressed crossbred calves to different shade materials. *Journal of Applied Animal Research*, 44:347–354. <https://doi.org/10.1080/09712119.2015.1074076>.
- Kappagoda, C. T., Burton-Freeman, B., & Edirisinghe, (2015). I. Method of modulating oxidative stress, inflammation, or impaired insulin sensitivity with grape seed extract. Patent 20,150,258,159, [Chicago]: United States Patent Office. Erişim adresi: <https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=US193030036>.
- Kargar, S., Ghorbani, G. R., Fievez, V., & Schingoethe, D.J. (2015). Performance, bioenergetic status, and indicators of oxidative stress of environmentally heat-loaded Holstein cows in response to diets inducing milk fat depression. *Journal of Dairy Science*, 98, 4772-4784. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-9100>.
- Kargar, S., Mousavi, F., Karimi-Dehkordi, S., & Ghaffari, M. H. (2018). Growth performance, feeding behavior, health status, and blood metabolites of environmentally heat-loaded Holstein dairy calves fed diets supplemented with chromium. *Journal of Dairy Science*, 101, 9876–9887. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14154>.
- Karvatte, J. R. N., Klosowski, E. S., Almeida, R. G., Mesquita, E. E., Oliveira, C. C., & Alves, F. V. (2016). Shading effect on microclimate and thermal comfort indexes in integrated crop-livestock-forest systems in the Brazilian Midwest. *International Journal of Biometeorology*, 60, 1933–1941. <https://doi.org/10.1007/s00484-016-1180-5>.
- Katiyar, S. K. (2015). Proanthocyanidins from grape seeds inhibit UV–radiation induced immune suppression in mice: detection and analysis of molecular and cellular targets. *Photochemistry and Photobiology*, 91, 156–162. <https://doi.org/10.1111/php.12330>.
- Kawabata, C. Y., Castro, R. C., & Savastano Júnior, H. (2005). Thermal comfort indexes and physiological responses of Holstein calves in individual houses with

- different roofings. *Engenharia Agrícola*, 25, 598–607. <https://doi.org/10.1590/S0100-69162005000300004>.
- Kendall, P. E., Tucker, C. B., Dalley, D. E., Clark, D. A., & Webster, J. R. (2008). Milking frequency affects the circadian body temperature rhythm in dairy cows. *Livestock Science*, 117, 130-138. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.12.009>.
- Khan, M. A., Weary, D. M., & von Keyerslingk, M. A. G. (2011). Hay intake improves performance and rumen development of calves fed higher quantities of milk. *Journal of Dairy Science*, 94, 3547-3553. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3871>.
- Kim, W. S., Lee, J. S., Jeon, S. W., Peng, D. Q., Kim, Y. S., Bae, M. H., Jo, Y. H., & Lee, H. G. (2018). Correlation between blood, physiological and behavioral parameters in beef calves under heat stress. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 31(6), 919-925. <https://dx.doi.org/10.5713%2Fajas.17.0545>.
- Kovács, L., Kézér, F. L., Póti, P., Boros, N., & Nagy, K. (2020). Short communication: Upper critical temperature-humidity index for dairy calves based on physiological stress variables. *Journal of Dairy Science*, 103(3), 2707-2710. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17459>.
- Kovács, L., Kézér, F. L., Ruff, F., Jurkovich, V., & Szenci, O. (2018a). Assessment of heat stress in 7-week old dairy calves with non-invasive physiological parameters in different thermal environments. *PLoS ONE*, 13, e0200622. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200622>.
- Kovács, L., Kézér, F. L., Ruff, F., Jurkovich, V., & Szenci, O. (2018b). Heart rate, cardiac vagal tone, respiratory rate, and rectal temperature in dairy calves exposed to heat stress in a continental region. *International Journal of Biometeorology*, 62, 1791–1797. <https://doi.org/10.1007/s00484-018-1581-8>.
- Kovács, L., Kézér, F. L., Ruff, F., Szenci, O., Bakony, M., & Jurkovich, V. (2019). Effect of artificial shade on saliva cortisol concentrations of heat-stressed dairy calves. *Domestic Animal Endocrinology*, 66, 43–47. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2018.09.001>.
- Kovats, R. S., & Hajat, S. (2008). Heat stress and public health: a critical review. *Annual Review of Public Health*, 29, 41–55. <https://doi.org/10.1146/annurev.publhealth.29.020907.090843>.
- Kristensen, T. N., Løvendahl, P., Berg, P., & Loeschcke, V. (2004). Hsp72 is present in plasma from Holstein Friesian dairy cattle, and the concentration level is repeatable across days and age classes. *Cell Stress & Chaperones*, 9(2), 143-149. <https://dx.doi.org/10.1379%2FCSC-17.1>.
- Kuhn, P., Kalariya, H. M., Poulev, A., Ribnicky, D. M., Jaja-Chimedza, A., Roopchand, D. E., & Raskin, I. (2018). Grape polyphenols reduce gut-localized reactive oxygen species associated with the development of metabolic syndrome

- in mice. *PLoS ONE*, 13, e0198716.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198716>.
- Kwatra, B. (2020). A review on potential properties and therapeutic applications of grape seed extract. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 9 (5), 2519-2540. <http://dx.doi.org/10.20959/wjpr20205-17514>.
- Lacetera, N., Bernabucci, U., Ronchi, B., & Nardone, A. (1996). Body condition score, metabolic status and milk production of early lactating dairy cows exposed to warm environment. *Rivista di Agricoltura Subtropicale e tropicale*, 90, 43–55.
- Lallawmkimi, C. M. (2009). Impact of thermal stress and vitamin-E supplementation on Heat shock protein 72 and antioxidant enzymes in Murrah buffaloes. Ph.D. Thesis submitted to NDRI deemed University, Karnal (Haryana), India.
- Lambert, G. P. (2001). Characterization of hyperthermia-induced intestinal permeability and the role of oxidative and nitrosative stress. The University of Iowa: Ann Arbor. p. 152-152.
- Lambert, G. P. (2004). Role of gastrointestinal permeability in exertional heatstroke. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 32, 185–190.  
<https://doi.org/10.1097/00003677-200410000-00011>.
- Lambert, G. P. (2009). Stress-induced gastrointestinal barrier dysfunction and its inflammatory effects. *Journal of Animal Science*, 87, E101-E108.  
<https://doi.org/10.2527/jas.2008-1339>.
- Lambert G. P., Gisolfi, C. V., Berg, D. J., Moseley, P. L., Oberley, L. W., & Kregel, K. C. (2002). Selected Contribution: Hyperthermia-induced intestinal permeability and the role of oxidative and nitrosative stress. *Journal of Applied Physiology*, 92, 1750-1761. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00787.2001>.
- Lamp, O., Derno, M., Otten, W., Mielenz, M., Nurnberg, G., & Kuhla, B. (2015). Metabolic heat stress adaption in transition cows: Differences in macronutrient oxidation between late-gestating and early-lactating German Holstein dairy cows. *PLoS ONE*, 10(5), e0125264. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0125264>.
- Laporta, J., Fabris, T. F., Skibieli, A. L., Powell, J. L., Hayen, M. J., Horvath, K., Miller-Cushon, E. K., & Dahl, G. E. (2017). In utero exposure to heat stress during late gestation has prolonged effects on the activity patterns and growth of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 100, 1–9.  
<https://doi.org/10.3168/jds.2016-11993>.
- Lappas, M., Permezed, M., & Rice, G. E. (2005). Leptin and adiponectin stimulate the release of proinflammatory cytokines and prostaglandins from human placenta and maternal adipose tissue via nuclear receptor-gamma and extracellularly regulated kinase 1/2. *Endocrinology*, 146, 3334–3342  
<https://doi.org/10.1210/en.2005-0406>.

- Lee, J. S., Kacem, N., Kim, W. S., Peng, D. Q., Kim, Y. J., Joung, Y. G., Lee, C., & Lee, H. G. (2019). Effect of *Saccharomyces boulardii* supplementation on performance and physiological traits of Holstein calves under heat stress conditions. *Animals*, 9, 510. <https://dx.doi.org/10.3390%2Fani9080510>.
- Lee, J. S., Kang, S., Kim, M. J., Han, S. G., & Lee, H. G. (2020). Dietary supplementation with combined extracts from garlic (*Allium sativum*), brown seaweed (*Undaria pinnatifida*), and pinecone (*Pinus koraiensis*) improves milk production in Holstein cows under heat stress conditions. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 33, 111–119. <https://doi.org/10.5713/ajas.19.0536>.
- Lefcourt, A. M., Bitman, J., Wood, D. L., & Stroud, B. (1986). Radiotelemetry system for continuously monitoring temperature in cows. *Journal of Dairy Science*. 69(1), 237-42. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(86\)80391-5](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(86)80391-5).
- Li, G., Ali, I., & Currie, R. W. (2006). Insulin induces myocardial protection and Hsp70 localization to plasma membranes in rat hearts. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 291, H1709–H1721. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00201.2006>.
- Li, Q. H., Yan, H. S., Li, H. Q., Gao, J. J., & Hao, R. R. (2020). Effects of dietary supplementation with grape seed procyanidins on nutrient utilisation and gut function in weaned piglets. *Animal*, 14, 491–498. <https://doi.org/10.1017/S1751731119002234>.
- Li, W. G., Zhang, X. Y., Wu, Y. J., & Tian, X. (2001). Anti-inflammatory effect and mechanism of proanthocyanidins from grape seeds. *Acta Pharmacologica Sinica*, 22, 1117–1120. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11749811/>.
- Llobera, A., & Canellas, J. (2007). Dietary fiber content and antioxidant activity of Manto Negro red grape (*Vitis vinifera*): Pomace and stem. *Food Chemistry*, 101, 659-666. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.025>.
- Loneragan, G. H., Wagner, J. J., Gould, D. H., Garry F. B., & Thoren, M. A. (2001). Effects of water sulfate concentration on performance, water intake and carcass characteristics of feedlot steers. *Journal of Animal Science*, 79, 2941-2948. <https://doi.org/10.2527/2001.79122941x>.
- López, E., Mellado, M., Martínez, A. M., Véliz, F. G., García, J. E., de Santiago, A., & Carrillo, E. (2018). Stress-related hormonal alterations, growth and pelleted starter intake in pre-weaning Holstein calves in response to thermal stress. *International Journal of Biometeorology*, 62, 493–500. <https://doi.org/10.1007/s00484-017-1458-2>.
- Lu, Q., Wen, J., & Zhang, H. (2007). Effect of chronic heat exposure on fat deposition and meat quality in two genetic types of chicken. *Poultry Science*, 86, 1059–1064. <https://doi.org/10.1093/ps/86.6.1059>.

- Mader, T. L., Davis, M. S., & Brown-Brandl, T. (2006). Environmental factor influencing heat stress in feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, 84(3), 712-719. <https://doi.org/10.2527/2006.843712x>.
- Mahjoubi, E., Yazdi, M. H., Aghaziarati, N., Noori, G. R., Afsarian, O., & Baumgard, L. H. (2015). The effect of cyclical and severe heat stress on growth performance and metabolism in Afshari lambs. *Journal of Animal Science*, 93, 1632-1640. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-8641>.
- Maibam, U., Hooda, O. K., Sharma, P. S., Upadhyay, R. C., & Mohanty, A. K. (2018). Differential level of oxidative stress markers in skin tissue of zebu and crossbreed cattle during heat stress. *Livestock Science*, 207, 45–50. <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2017.11.003>.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenol: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 727-744. <https://doi.org/10.1093/ajcn/79.5.727>.
- Manriquez, D., Valenzuela, H., Paudyal, S., Velasquez, A., & Pinedo, P. J. (2017). Effect of aluminized reflective hutch covers on calf health and performance. *Journal of Dairy Science*, 101, 1464–1477. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13045>.
- Marrero, M. G., Dado-Senn, B., Field, S. L., Yang, G., Driver, J. P., & Laporta, J. (2021). Chronic heat stress delays immune system development and alters serotonin signaling in pre-weaned dairy calves. *PLoS ONE*, 16(6), e0252474. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0252474>.
- McDowell, R., Moody, E., Van Soest, P., Lehmann, R., & Ford, G. (1969). Effect of heat stress on energy and water utilization of lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 52(2), 188–94. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(69\)86528-8](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(69)86528-8).
- McGuirk, S. M. (2008). Disease management of dairy calves and heifers. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 24, 139–153. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.10.003>.
- Merlot, E., Couret, D., & Otten, W. (2008). Prenatal stress, fetal imprinting and immunity. *Brain, Behavior, and Immunity*, 22, 42–51. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2007.05.007>.
- Miller-Cushon, E. K., Montoro, C., Ipharraguerre, I. R., & Bach, A. (2014). Dietary preference in dairy calves for feed ingredients high in energy and protein. *Journal of Dairy Science*, 97(3), 1634-44. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7199>.
- Min, L., Li, D., Tong, X., Nan, X., Ding, D., Xu, B., & Wang, G. (2019). Nutritional strategies for alleviating the detrimental effects of heat stress in dairy cows: a review. *International Journal of Biometeorology*, 63, 1283–1302. <https://doi.org/10.1007/s00484-019-01744-8>.

- Mirzadeh, K. H., Tabatabaei, S., Bojarpour, M., & Mamoei, M. (2010). Comparative Study of Hematological Parameters According Strain, Age, Sex, Physiological Status and Season in Iranian Cattle. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9, 2123–2127. <http://dx.doi.org/10.3923/javaa.2010.2123.2127>.
- Monagas, M., Urpi-Sarda, M., Sánchez Patán, F., Lorach, R., Garrido, Gómez-Cordovés, I., Andrés Lacueva, C., & Bartolomé, B. (2010). Insights into the metabolism and microbial biotransformation of dietary flavan-3-ols and the bioactivity of their metabolites. *Food & Function*, 1, 233-253. <https://doi.org/10.1039/c0fo00132e>.
- Moncada, S., Palmer, R. M., & Higgs, E. A. (1991). Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacological Reviews*, 43(2), 109-142.
- Montagut, G., Onnockx, S., Vaqué, M., Bladé, C., Blay, M., Fernández-Larrea, J., Pujadas, G., Salvadó, M. J., Arola, L., Pirson, I., Ardévol, & Pinent, M. (2010). Oligomers of grape-seed procyanidin extract activate the insulin receptor and key targets of the insulin signaling pathway differently from insulin. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 21(6), 476-481. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2009.02.003>.
- Montoro, C., Miller-Cushon, E. K., DeVries, T. J., & Bach, A. (2013). Effect of physical form of forage on performance, feeding behavior, and digestibility of Holstein calves. *Journal of Dairy Science*, 96, 1117-1124. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5731>.
- Moore, D. A., Duprau, J. L., & Wenz, J. R. (2012). Short communication: effects of dairy calf hutch elevation on heat reduction, carbon dioxide concentration, air circulation, and respiratory rates. *Journal of Dairy Science*, 95, 4050–4054. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2012-5397>.
- Morar, D., Ciulan, V., Simiz, F., Mot, T. Hutu, I., Vudava, C., 2018. The effect of thermal stress on hematological parameters in dairy cows. *Lucrari științifice medicinii veterinarii* vol. LI(2). Timisoara,
- Morimoto, I., Yamamoto, S., Kai, K., Fujihira, T., Morita, E., & Eto, S. (2000). Centrally administered murine-leptin stimulates the hypothalamus-pituitary-adrenal axis through arginine-vasopressin. *Neuroendocrinology*. 71, 366–374. <https://doi.org/10.1159/000054557>.
- Morón, U. M., & Cortázar, I. C. (2012). Protection against oxidative stress and “IGF-I deficiency conditions. In book: Antioxidant Enzyme, Editors: Intech Europe, 4, 89-116. <https://doi.org/10.5772/51047>.
- Mu, C., Hao, X., Zhang, X., Zhao, J., & Zhang, J. (2021). Effects of high-concentrate diet supplemented with grape seed procyanidins on the colonic fermentation, colonic morphology, and inflammatory response in lambs. *Animal Feed Science and Technology*, 281, 115118. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.115118>.

- Mu, C., Yang, W., Wang, P., Zhao, J., Hao, X., & Zhang, J. (2020). Effects of high-concentrate diet supplemented with grape seed proanthocyanidins on growth performance, liver function, meat quality, and antioxidant activity in finishing lambs. *Animal Feed Science and Technology*, 266, 114518. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114518>.
- Murata, H., Shimada, N., & Yoshioka, M. (2004). Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *The Veterinary Journal*, 168, 28-40. [https://doi.org/10.1016/s1090-0233\(03\)00119-9](https://doi.org/10.1016/s1090-0233(03)00119-9).
- Nallathambi, R., Poulev, A., Zuk, J. B., & Raskin, I. (2020). Proanthocyanidin-rich grape seed extract reduces inflammation and oxidative stress and restores tight junction barrier function in caco-2 colon cells. *Nutrients*, 12(6), 1623. <https://doi.org/10.3390/nu12061623>.
- Nazifi, S., Saeb, M., Rowghani, E., & Kaveh, K. (2003). The influences of thermal stress on serum biochemical parameters of Iranian fat-tailed sheep and their correlation with triiodothyronine (T3), thyroxine (T4) and cortisol concentrations. *Comparative Clinical Pathology*, 12, 135–139. <http://dx.doi.org/10.1007/s00580-003-0487-x>.
- Niu, C. S., Lin, M. T., Liu, I. M., & Cheng, J. T. (2003). Role of striatal glutamate in heatstroke-induced damage in streptozotocin-induced diabetic rats. *Neuroscience Letters*, 348, 77–8. [https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(03\)00720-1](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(03)00720-1).
- Nonaka, I., Takusari, N., Tajima, K., Suzuki, T., Higuchi, K., & Kurihara, M. (2008). Effects of high environmental temperatures on physiological and nutritional status of prepubertal Holstein heifers. *Livestock Science*, 113(1), 14–23. <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2007.02.010>.
- NRC (National Research Council). (1971). *A Guide to Environmental Research on Animals*. National Academy Science, Washington, DC, USA.
- NRC (National Research Council). (2001). *Nutrient requirements of dairy cattle*, 7<sup>th</sup> revised edition. National Academies Press, Washington DC, USA.
- O'Brien, M. D., Rhoads, R. P., Sanders, S. R., Duff, G. C., & Baumgard, L. H. (2010). Metabolic adaptations to heat stress in growing cattle. *Domestic Animal Endocrinology*, 38, 86–94. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2009.08.005>.
- Okoruwa, M. I. (2014). Effect of heat stress on thermoregulatory, live bodyweight and physiological responses of dwarf goats in southern Nigeria. *European Science Journal*, 10, 255–264. <https://doi.org/10.19044/esj.2014.v10n27p%25p>.
- Okuda, T., Yoshida, T., & Hatano, T. (1989). New methods of analyzing tannins. *Journal of Natural Products*, 52, 1-31. <http://dx.doi.org/10.1021/np50061a001>.
- OrellanaRivas, R. M., Komori, G. H., Beihling, V. V., Marins, T. N., Bernard, J. K., & Tao, S. (2020). Effects of milk replacer feeding levels on performance and

- metabolism of preweaned dairy calves during summer. *Journal of Dairy Science* 103, 313–324. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17360>.
- Ortega, H., Llanos, J. P., Lafeuille, M. H., Duh, M. S., Germain, G., Lejeune, D., Sama, S., Bell, C., & Hahn, B. (2019). Effects of systemic corticosteroids on blood eosinophil counts in asthma: real-world data. *Journal of Asthma*, 56(8), 808-815. <https://doi.org/10.1080/02770903.2018.1502301>.
- Overvest, M. A., Crossley, R. E., Miller-Cushon, E. K., & DeVries, T. J. (2018). Social housing influences the behavior and feed intake of dairy calves during weaning. *Journal of Dairy Science*, 101, 8123–8134. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14465>.
- Pan, L., Bu, D. P., Wang, J. Q., Cheng, J. B., Sun, X. Z., Zhou, L. Y., Qin, J. J., Zhang, X. K., & Yuan, Y. M. (2014). Effects of Radix Bupleuri extract supplementation on lactation performance and rumen fermentation in heatstressed lactating Holstein cows. *Animal Feed Science and Technology*, 187, 1–8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2013.09.008>.
- Parandoosh, M., Yousefi, R., Khorsandi, H., Nikpayam, O., Saidpour, A., & Babaei, H. (2020). The effects of grape seed extract (*Vitis vinifera*) supplement on inflammatory markers, neuropeptide Y, anthropometric measures, and appetite in obese or overweight individuals: A randomized clinical trial. *Phytotherapy Research*, 34(2), 379-387. <https://doi.org/10.1002/ptr.6529>.
- Pastrana-Bonilla, E., Akoh, C. C., Sellappan, S., & Krewer, G. (2003). Phenolic content and antioxidant capacity of muscadine grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 5497–4503. <https://doi.org/10.1021/jf030113c>.
- Pearce, S. C., Mani, V., Boddicker, R. L., Johnson, J. S., Weber, T. E., Ross, J. W., Rhoads, R. P., Baumgard, L. H., & Gabler, N. K. (2013). Heat stress reduces intestinal barrier integrity and favors intestinal glucose transport in growing pigs. *PLoS ONE* 8(8), e70215. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070215>.
- Pearce, S. C., Upah, N. C., Harris, A., Gabler, N. K., Ross, J. W., Rhoads, R. P., & Baumgard, L. H. (2011). Effects of heat stress on energetic metabolism in growing pigs. *The FASEB Journal*, 25, 1052.5. (Abstract.)
- Peña, G., Risco, C., Kunihiro, E., Thatcher, M. J., & Pinedo, P. J. (2016). Effect of housing type on health and performance of preweaned dairy calves during summer in Florida. *Journal of Dairy Science* 99, 1655–1662. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10164>.
- Piccione, G., Caola, G., & Refinetti, R. (2003). Daily and estrous rhythmicity of body temperature in domestic cattle. *BMC Physiology*, 28, 3-7. <https://doi.org/10.1186/1472-6793-3-7>.
- Pinelo, M., Rubilar, M., Sineiro, J., & Nunez, M. J. (2005). A thermal treatment to increase the antioxidant capacity of natural phenols: catechin, resveratrol and



- grape extract cases. *European Food Research and Technology*, 221, 284–290. <http://dx.doi.org/10.1007/s00217-005-1159-7>.
- Pinelo, M., Shene, M., Sineiro, C., & Nuñez, M. J. (2007). Separation and HPLC-MS identification of phenolic antioxidants from agricultural residues: almond hulls and grape pomace. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(25), 10101–9. <https://doi.org/10.1021/jf0721996>.
- Pinent, M., Blay, M., Bladé, M. C, Salvadó, M. J., Arola, L., & Ardévol, A. (2004). Grape seed-derived procyanidins have an antihyperglycemic effect in streptozotocin-induced diabetic rats and insulinomimetic activity in insulin-sensitive cell lines. *Endocrinology*, 145(11), 4985–4990. <https://doi.org/10.1210/en.2004-0764>.
- Polsky, L., & von Keyserlingk, M. A. (2017). Invited review: Effects of heat stress on dairy cattle welfare. *Journal of Dairy Science*, 100, 8645–8657. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12651>.
- Pragna, P., Sejian, V., Soren, N. M., Bagath, M., Krishnan, G., Beena, V., Devi, P. I., & Bhatta, R. (2018). Summer season induced rhythmic alterations in metabolic activities to adapt to heat stress in three indigenous (Osmanabadi, Malabari and Salem Black) goat breeds. *Biological Rhythm Research*, 49, 551–565. <https://doi.org/10.1080/09291016.2017.1386891>.
- Pratt, W. B. (1997). The role of the hsp90-based chaperone system in signal transduction by nuclear receptors and receptors signaling via MAP kinase. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 37, 297–326. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.37.1.297>.
- Prill, R. (2000). Why measure carbon dioxide inside buildings? Washington State University Extension Energy Program, Spokane. Accessed Jun. 10, 2011. <https://www.energy.wsu.edu/documents/co2inbuildings.pdf>. Clinical Examination of Farm Animals.
- Prior, R. L., Hoang, H., Gu, L. W., Wu, X. L., Bacchiocca, M., Huang, D. J., Ou, B. X., & Jacob, R. (2003). Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity) of plasma and other biological and food samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 3273–3279. <https://doi.org/10.1021/jf0262256>.
- Provolo, G., & Riva, E. (2009). One year study of lying and standing behaviour of dairy cows in a freestall barn in Italy. *Journal of Agricultural Engineering*, 40, 27–33. <http://dx.doi.org/10.4081/jae.2009.2.27>.
- Rai, A., Gill, M., Kinra, M., Shetty, R., Krishnadas, N., Rao, C. M., Sumalatha, S., & Kuma, N. (2019). Catechin ameliorates depressive symptoms in Sprague Dawley rats subjected to chronic unpredictable mild stress by decreasing oxidative stress. *Biomedical Reports*, 11(2), 79–84. <https://doi.org/10.3892/br.2019.1226>.

- Rathwa, S. D., Vasava, A. A., Pathan, M. M., Madhira, S. P., Patel, Y. G., & Pande, A. M. (2017). Effect of season on physiological, biochemical, hormonal, and oxidative stress parameters of indigenous sheep. *Veterinary World*, 10(6), 650-654. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.650-654>.
- Raub, J., Heins, B. J., Chesterjones, H., Diaz, H. L., Ziegler, D., Linn, J., & Broadwater, N. (2019). Relationships between protein and energy consumed from milk replacer and starter and calf growth and first-lactation production of Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 102(1), 301-310. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15074>.
- Razdan, M. N., Bhoserkar, M. R., & Roy, S. N. (1968). Physiological behavior of Tharparkar cattle under different environments. Physiological reactors and zone of thermoneutrality. *Indian Journal of Dairy Science*, 21, 82-86.
- Reeds, P. J., & Burrin, D. G. (2000). The gut and amino acid homeostasis. *Nutrition*, 16, 666-668. [https://doi.org/10.1016/s0899-9007\(00\)00354-3](https://doi.org/10.1016/s0899-9007(00)00354-3).
- Rhoads, R. P., Kim, J. W., Leury, B. J., Baumgard, L. H., Segole, N., Frank, S. T., Bauman, D. E., & Boisclair, Y. R. (2004). Insulin increases the abundance of growth hormone receptor in liver and adipose tissue of periparturient dairy cows. *Journal of Nutrition*, 134, 1020-27. <https://doi.org/10.1093/jn/134.5.1020>.
- Rhoads, M. L., Kim, J. W., Collier, R. J., Crooker, B. A., Boisclair, Y. R., Baumgard, L. H., & Rhoads, R. P. (2010). Effects of heat stress and nutrition on lactating Holstein cows: II. Aspects of hepatic growth hormone responsiveness. *Journal of Dairy Science*, 93, 170-79. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2469>.
- Rhoads, R. P., La Noce, A. J., Wheelock, J. B., & Baumgard, L. H. (2011). Short Communication: Alterations in expression of gluconeogenic genes during heat stress and exogenous bovine somatotropin administration. *Journal of Dairy Science*, 94, 1917-1921. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3722>.
- Rhoads, R. P., Sanders, S. R., Cole, L., Skrzypek, M. V., Elsasser, T. H., et al. (2009). Effects of heat stress on glucose homeostasis and metabolic response to an endotoxin challenge in Holstein steers. *Journal of Animal Science*, 87(E-Suppl. 2):78 (Abstr.)
- Roche, E., Maestre, I., Martin, F., Fuentes, E., Casero, J., Reig, J. A., & Soria, B. (2000). Nutrient toxicity in pancreatic beta-cell dysfunction. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 56, 119-128. <https://doi.org/10.1007/bf03179907>.
- Rodríguez-Montealegre, R., Romero, R., Chacón, J. L., Martínez, J., & García, E. (2006). Phenolic compounds in skins and seeds of ten grape *Vitis vinifera* varieties grown in a warm climate. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 687-693. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2005.05.003>.

- Roefeldt, S. (1998). You can't afford to ignore heat stress. *Dairy Manage*, 35(5), 6-12. Erişim adresi: <https://www.scienceopen.com/document?vid=99ca03ce-55cb-45e1-8158-1ab66e00a2cf>.
- Roland, L., Drillich, M., Klein-Jöbstl, D., & Iwersen, M. (2016). Invited review: Influence of climatic conditions on the development, performance, and health of calves. *Journal of Dairy Science*, 99, 2438-2452. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9901>.
- Romero, R. D., Pardo, A. M., Montaldo, H. H., Rodriguez, A. D., & Ceron, J. H. (2013). Differences in body temperature, cell viability, and HSP-70 concentrations between Pelibuey and Suffolk sheep under heat stress. *Tropical Animal Health and Production*, 45, 1691-1696. <https://doi.org/10.1007/s11250-013-0416-1>.
- Safaei, N., Babaei, H., Azarfarin, R., Jodati, A. R., Yaghoubi, A., & Sheikhalizadeh, M. A. (2017). Comparative effect of grape seed extract (*Vitis vinifera*) and ascorbic acid in oxidative stress induced by on-pump coronary artery bypass surgery. *Annals of Cardiac Anaesthesia*, 20, 45-51. <https://doi.org/10.4103/0971-9784.197834>.
- Samuel, K. G., Wang, J., Yue, H. Y., Wu, S. G., Zhang, H. J., Duan, Z. Y., & Qi, G. H. (2017). Effects of dietary gallic acid supplementation on performance, antioxidant status, and jejunum intestinal morphology in broiler chicks. *Poultry Science*, 96, 2768-2775. <https://doi.org/10.3382/ps/pex091>.
- Sánchez-Patán, F., Cueva, C., Monagas, M., Walton, G. E., Gibson, G. R., Martín-Álvarez, P. J., Moreno-Arribas, M. V., & Bartolomé, B. (2012). Gut microbial catabolism of grape seed flavan-3-ols by human faecal microbiota. Targeted analysis of precursor compounds, intermediate metabolites and end-products *Food Chemistry*, 131, 337-347. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.011>.
- Sarada S., Himadri, P., Mishra C., Geetali, P., Ram, M. S., & Ilavazhagan, G. (2008). Role of oxidative stress and NFkB in hypoxia-induced pulmonary edema. *Experimental Biology and Medicine*, 233, 1088-1098. <https://doi.org/10.3181/0712-rm-337>.
- Sato, M., Bagchi, D., Tosaki, A., & Das, D. K. (2001). Grape seed proanthocyanidin reduces cardiomyocyte apoptosis by inhibiting ischemia/reperfusion-induced activation of JNK-1 and C-JUN. *Free Radical Biology and Medicine*, 31, 729-737. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(01\)00626-8](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(01)00626-8).
- Satyam, S. M., Bairy, L. K., Pirasanthan, R., & Vaishnav, R. L. (2013). Grape seed extract and zinc containing nutritional food supplement decreases the oxidative stress induced by carbon tetrachloride in rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(4), 626-631.

- Schneider, P. L., Beede, D. K., & Wilcox, C. J. (1988). Nycterohemeral patterns of acid-base status, mineral concentrations and digestive function of lactating cows in natural or chamber heat stress environments. *Journal of Animal Science*, 66(1), 112. <https://doi.org/10.2527/jas1988.661112x>.
- Schneider, P. L., Beede, D. K., Wilcox, C. J., & Collier, R. J. (1984). Influence of dietary sodium and potassium bicarbonate and total potassium on heat-stressed lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 67(11), 2546-2553. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(84\)81611-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(84)81611-2).
- Sehirli, O., Ozel, Y., Dulundu, E., Topaloglu, U., Ercan, F., & Sener, G. (2008). Grape seed extract treatment reduces hepatic ischemia-reperfusion injury in rats. *Phytotherapy Research*, 22, 43-48. <https://doi.org/10.1002/ptr.2256>.
- Sejian, V., Bhatta R., Gaughan J. B., Dunshea F. R., & Lacetera, N. (2018). Review: Adaptation of animals to heat stress. *Animal*, 2, 431-444. <https://doi.org/10.1017/s1751731118001945>.
- Selma, M. V., Espin, J. C., & Tomás-Barberán, F. A. (2009). Interaction between phenolics and gut microbiota: role in human health. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 6485-6501. <https://doi.org/10.1021/jf902107d>.
- Serra, A., Macia, A., Romero, M. P., Salvado, M., Bustos, M., Fernández-Larrea, J., & Motilva, M. J. (2009). Determination of procyanidins and their metabolites in plasma samples by improved liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 877, 1169-1176. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2009.03.005>.
- Shaji, S., Sejian, V., Bagath, M., Manjunathareddy, G. B., & Kurien, E. K. (2016). Summer season related heat and nutritional stresses on the adaptive capability of goats based on blood biochemical response and hepatic HSP70 gene expression. *Biological Rhythm Research*, 48, 65-83. <https://doi.org/10.1080/09291016.2016.1232340>.
- Sharma, A. K., & Kataria, N. (2011). Effects of extreme hot climate on liver and serum enzymes in Marwari goats. *Indian Journal of Animal Science*, 81, 293-295.
- Shehab-El-Deen, M. A. M. M., Leroy, J. L. M. R., Fadel, M.S., Saleh, S. Y. A., Maes, D., & van Soom, A. (2010). Biochemical changes in the follicular fluid of the dominant follicle of high producing dairy cows exposed to heat stress early post-partum. *Animal Reproduction Science*, 117, 189-200. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2009.04.013>.
- Shi, J., Yu, J., Pohorly, J. E., & Kakuda, Y. (2003). Polyphenolics in grape seeds-biochemistry and functionality. *Journal of Medicinal Food*, 6, 291-299. <https://doi.org/10.1089/109662003772519831>.

- Shilja, S., Sejian, V., Bagath, M., Mech, A., David, C. G., Kurien, E. K., Varma, G., & Bhatta, R. (2016). Adaptive capability as indicated by behavioural and physiological responses, plasma HSP70 level, and PBMC HSP70 mRNA expression in Osmanabadi goats subjected to combined (heat and nutritional) stressors. *International Journal of Biometeorology*, 60, 1311–1323. <https://doi.org/10.1007/s00484-015-1124-5>.
- Shimabukuro, M., Koyama, K., Chen, G., Wang, M. Y., Trieu, F., Lee, Y., Newgard, C. B., & Unger, R. H. (1997). Direct antidiabetic effect of leptin through triglyceride depletion of tissues. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94, 4637–4641. <https://dx.doi.org/10.1073%2Fpnas.94.9.4637>.
- Silanikove, N. (1992). Effects of water scarcity and hot environment on appetite and digestion in ruminants: a review. *Livestock Production Science*, 30(3), 175–94. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(06\)80009-6](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(06)80009-6).
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152–178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1).
- Smith, T. R., Chapa, A., Willard, S., Herndon, C., Williams, R. J., Crouch, J., Riley, T., & Pogue, D., (2006). Evaporative tunnel cooling of dairy cows in the southeast. I: effect on body temperature and respiration rate. *Journal of Dairy Science*, 89, 3904–3914. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72433-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72433-X).
- Smithson, A. T. (2016). *The effect of supplemental grape seed extract on pig growth performance and body composition during heat stress*. (Masters, Virginia Polytechnic Institute and State University), Erişim adresi: <http://hdl.handle.net/10919/71764>.
- Soberon, F., Raffrenato, E., Everett, R. W., & Van Amburgh, M. E. (2012). Preweaning milk replacer intake and effects on long-term productivity of dairy calves. *Journal of Dairy Science*. 95, 783–793. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4391>.
- Soobrattee, M. A., Neergheen, V. S., Luximon-Ramma, A., Aruoma, O. I., & Bahorun, T. (2005). Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: mechanism and actions. *Mutation research*, 579, 200–213. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2005.03.023>.
- Spain, J. N., & Spiers, D. E. (1996). Effects of supplemental shade on thermoregulatory response of calves to heat challenge on heat environment. *Journal of Dairy Science*, 79, 639–646. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(96\)76409-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76409-3).

- Spiers, D. E., Spain, J. N., Sampson, J. D., & Rhoads, R. P. (2004). Use of physiological parameters to predict milk yield and feed intake in heat-stressed dairy cows. *Journal of Thermal Biology*, 29, 759–764. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2004.08.051>.
- Srikandakumar, A., & Johnson, E. H. (2004). Effect of heat stress on milk production, rectal temperature, respiratory rate and blood chemistry in Holstein, Jersey and Australian Milking Zebu cows. *Tropical Animal Health and Production*, 36(7), 685-692. doi: 10.1023/b:trop.0000042868.76914.a9.
- Staerfl, S. M., Soliva, C. R., Leiber, F., & Kreuzer, M. (2011). Fatty acid profile and oxidative stability of the perirenal fat of bulls fattened on grass silage and maize silage supplemented with tannins, garlic, maca and lupines. *Meat Science*, 89, 98–104. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.04.006>.
- Stamey, J. A., Janovick, N. A., Kertz, A. F., & Drackley, J. K. (2012). Influence of starter protein content on growth of dairy calves in an enhanced early nutrition program. *Journal of Dairy Science*, 95, 3327–3336. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-5107>.
- Stivanin, S. C. B., Vizzotto, E. F., Parisa, M., Zanela, M. B., Passos, L. T., Angelo I. D. V., & Fischer, V. (2019). Addition of oregano or green tea extracts into the diet for Jersey cows in transition period. Feeding and social behavior, intake and health status. Plant extracts for cows in the transition period. *Animal Feed Science and Technology*, 257, 114–265. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.114265>.
- Streffer, C. (1982). Aspects of biochemical effects by hyperthermia. *National Cancer Institute Monograph*, 61, 11–17.
- Streffer, C. (1988). Aspects of Metabolic change after hyperthermia. *Recent Results in Cancer Research*, 107, 7–16. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-83260-4\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-642-83260-4_2).
- Sullivan, M. L., Cawdell-Smith, A. J., Mader, T. L., Gaughan, J. B. (2011). Effect of shade area on performance and welfare of short-fed feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, 89, 2011–2925. <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3152>.
- Sunil, Kumar, B. V., Singh, G., & Meur, S. K. (2010). Effects of Addition of electrolyte and ascorbic acid in feed during heat stress in buffaloes. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 23(7), 880-888. <https://doi.org/10.5713/ajas.2010.90053>.
- Suwannaphet, W., Meeprom, A., Yibchok-Anun, S., & Adisakwattana, S. (2010). Preventive effect of grape seed extract against high-fructose diet-induced insulin resistance and oxidative stress in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 48(7), 1853–1857. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.04.021>.
- Tajima, K., Nonaka, I., Higuchi, K., Takusari, N., Kurihara, M., Takenaka, A., Mitsumori, M., Kajikawa, H., & Aminov, R. I. (2007). Influence of high

- temperature and humidity on rumen bacterial diversity in Holstein heifers. *Anaerobe*, 13(2):57–64. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2006.12.001>.
- Taladrid, D., González de Llano, D., Zorraquín-Peña, I., Tamargo, A., Silva, M., Molinero, N., Moreno-Arribas, M. V., & Bartolomé, B. (2021). Gastrointestinal digestion of a grape pomace extract: impact on intestinal barrier permeability and interaction with gut microbiome. *Nutrients*, 13(7), 2467. <https://doi.org/10.3390/nu13072467>.
- Tao, S., & Dahl, G. E. (2013). Invited review: heat stress effects during late gestation on dry cows and their calves. *Journal of Dairy Science*, 96, 4079–4093. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6278>.
- Tao, S., Monteiro, A. P., Thompson, I. M., Hayen, M. J., & Dahl, G. E. (2012). Effect of late gestation maternal heat stress on growth and immune function of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 95, 7128–7136. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5697>.
- Tao, S., Thompson, I. M., Monteiro, A. P. A., Hayen, M. J., Young, L. J., & Dahl, G. E. (2012). Effect of cooling heat-stressed dairy cows during the dry period on insulin response. *Journal of Dairy Science*, 95, 5035–5046. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5405>.
- Teissedre, P. L., & Waterhouse, A. L. (2000). Inhibition of oxidation of human low-density lipoproteins by phenolic substances in different essential oils varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 3801–3805. <https://doi.org/10.1021/jf990921x>.
- Terra, X., Montagut, G., Bustos, M., Llopiz, N., Ardevol, A., Blade, C., Fernandez-Larrea, J., Pujadas, G., & Salvado, J, Arola L. (2009). Grape-seed procyanidins prevent low-grade inflammation by modulating cytokine expression in rats fed a high-fat diet. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 20, 210–218. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2008.02.005>.
- Terra, X., Pallarés V., Ardèvol, A., Bladé, C., Fernández-Larrea, J., Pujadas, G., Salvadó, J., Arola, L., & Blay, M. (2011). Modulatory effect of grape-seed procyanidins on local and systemic inflammation in diet-induced obesity rats *Journal of Nutritional Biochemistry*, 22, 380–387. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2010.03.006>.
- Terré, M., Devant, M., & Bach, A. (2007). Effect of level of milk replacer fed to Holstein calves on performance during the preweaning period and starter digestibility at weaning. *Livestock Science*, 110, 82–88. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2006.10.001>.
- Thom, E. C. (1959). The discomfort index. *Weatherwise*, 12, 57–60. <https://doi.org/10.1080/00431672.1959.9926960>.

- Todini, L. (2007). Thyroid hormones in small ruminants: effects of endogenous, environmental and nutritional factors. *Animal*, 1, 997–1008. <https://doi.org/10.1017/s1751731107000262>.
- Toscano, G., Riva, G., Duca, D., Pedretti, E. F., Corinaldesi, F., & Rossini, G. (2013). Analysis of the characteristics of the residues of the wine production chain finalized to their industrial and energy recovery. *Biomass and Bioenergy*, 55, 260-267. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2013.02.015>.
- Tsanga, C., Higginsa, S., Duthiea ,G. G., Duthiea, S. J., Howiea, M., Mullen, W., Leana, M. E. J., & Crozier, A. (2005). The influence of moderate red wine consumption on antioxidant status and indices of oxidative stress associated with CHD in healthy volunteers. *British Journal of Nutrition*, 93, 233–240. <https://doi.org/10.1079/bjn20041311>.
- TÜİK (Türkiye İstatistik Kurumu). (2022). Erişim adresi: <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Cig-Sut-Uretim-Istatistikleri-2020-2021-45861>.
- Tzounis, X., Vulevic, J., Kuhnic, G. G. C., George, T., Leonczak, J., Gibson, C. R., Kwik-Urbe, C., & Spencer, J. P. E. (2008). Flavanol monomer-induced changes to the human faecal microflora. *British Journal of Nutrition*, 99, 782-792. <https://doi.org/10.1017/s0007114507853384>.
- Upah, N., Pearce, S., Gabler N. K., & Baumgard, L. H. (2011). Effects of heat stress and plane of nutrition on production and metabolism in growing pigs. *Journal of Animal Science*, 91(5):2108-18. <https://doi.org/10.2527/jas.2012-5738>.
- Uyeno, Y., Sekiguchi, Y., Tajima, K., Takenaka, A., Kurihara, M., & Kamagata, Y. (2010). An rRNA-based analysis for evaluating the effect of heat stress on the rumen microbial composition of Holstein heifers. *Anaerobe*, 16(1), 27–33. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2009.04.006>.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39;44-84. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>.
- Van Soest, P., Robertson, J., & Lewis , B. (1991). Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74, 3583-3597. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2).
- Vermerris, W., & Nicholson, R. (2006). The role of phenols in plant defense W. Vermerris, R. Nicholson (Eds.), *Phenolic Compound Biochemistry*, Springer, Dordrecht, The Netherlands pp. 211-234.
- Vickers, L. A., Burfeind, O., von Keyserlingk, M. A. G., Veira, D. M., Weary, D. M., & Heuwieser, W. (2010) .Technical note: Comparison of rectal and vaginal



- temperatures in lactating dairy cows *Journal of Dairy Science*, 93, 5246-5251. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3388>.
- Vijayakumar, P., Pandey, H. N., Singh, M., Dutt, T., & Tomar, A. K. S. (2009). Behavioural response to heat ameliorative measures on buffalo heifers. *Indian Journal of Animal Sciences*, 79, 433–436.
- Voljc, M., Frankic, T., Levart, A., Nemec, M., & Salobir, J. (2011). Evaluation of different vitamin e recommendations and bioactivity of  $\alpha$ -tocopherol isomers in broiler nutrition by measuring oxidative stress in vivo and the oxidative stability of meat. *Poultry Science*, 90, 1478-1488. <https://doi.org/10.3382/ps.2010-01223>.
- Wang, J., Li, J., Wang, F., Xiao, J., Wang, Y., Yang, H., Li, S., & Cao, Z. (2020). Heat stress on calves and heifers: a review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 11(1), 79. <http://dx.doi.org/10.1186/s40104-020-00485-8>.
- Wang, M. L., Suo, X., Gu, J. H., Zhang, W. W., Fang, Q., & Wang, X. (2008). Influence of grape seed proanthocyanidin extract in broiler chickens: effect on chicken coccidiosis and antioxidant status. *Poultry Science*, 87, 2273–2280. <https://doi.org/10.3382/ps.2008-00077>.
- Wenz, J. R., Fox, L. K., Muller, F. J., Rinaldi, M., Zeng, R., & Bannerman, D. D. (2010). Factors associated with concentrations of select cytokine and acute phase proteins in dairy cows with naturally occurring clinical mastitis. *Journal of Dairy Science*, 93, 2458-2470. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2819>.
- West, J. W. (2003). Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 86(6), 2131–2144. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73803-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73803-X).
- Wheelock, J. B., Rhoads, R. P., VanBaale, M. J., Sanders, S. R., & Baumgard, L. H. (2010). Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 93, 644–655. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2295>.
- Wiedmeier, R. D., Young, A. J., & Hammon, D. S. (2005). Frequent changing and rinsing of drinking water buckets improved performance and health of hutch-reared Holstein beef calves. *Bovine Practitioner*, 40, 1–8.
- Wojtas, K., Cwynar, P., & Kolacz, R. (2014). Effect of thermal stress on physiological and blood parameters in merino sheep. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 58, 283–288. <https://doi.org/10.2478/bvip-2014-0043>.
- Xia, E. Q., Deng, G. F., Guo, Y. J., & Li, H. B. (2010). Biological activities of polyphenols from grapes. *International Journal of Molecular Sciences*, 11, 622-646. <https://dx.doi.org/10.3390%2Fijms11020622>.
- Xu, H. J., Zhang, Q. Y., Wang, L. H., Zhang, C. R., Li, Y., & Zhang, Y. G. (2022). Growth performance, digestibility, blood metabolites, ruminal fermentation, and bacterial communities in response to the inclusion of gallic acid in the starter

- feed of preweaning dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 105(4), 3078-3089. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20838>.
- Yadav, B., Singh, G., Verma, A., Dutta, N., & Sejian, V. (2013). Impact of heat stress on rumen functions. *Veterinary World*, 6(12), 992.
- Yang, J. Y., Zhang, H. J., Wang, J., Wu, S. G., Yue, H. Y., Jiang, X. R., & Qi, G. H., (2017). Effects of dietary grape proanthocyanidins on the growth performance, jejunum morphology and plasma biochemical indices of broiler chicks. *Animal*, 11(5), 762–770. <https://doi.org/10.1017/s1751731116002056>.
- Yousef, M. K. (1985). Stress physiology in livestock. vol.1. Basic principles. (CRC Press: Boca Raton, FL). p217.
- Yunta, C., Terré, M., & Bach, A. (2015). Short- and medium-term changes in performance and metabolism of dairy calves offered different amounts of milk replacers. *Livestock Science*, 181, 249–255. <http://dx.doi.org/10.1016%2Fj.livsci.2015.09.008>.
- Zimbelman, R. B., Collier, R. J., & Bilby, T. R. (2013). Effects of utilizing rumen protected niacin on core body temperature as well as milk production and composition in lactating dairy cows during heat stress. *Animal Feed Science and Technology*, 180, 26–33. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2013.01.005>.

## 7. SİMGE VE KISALTMALAR

**ADF:** Asit Deterjan Fiber  
**ADL:** Asit Deterjan Lignin  
**ALT:** Alanin aminotransferaz  
**AST:** Aspartat Aminotransferaz  
**GCAA:** Günlük Canlı Ağırlık Artışı  
**GPx:** Glutasyon Peroksidaz  
**GR:** Glutasyon Redüktaz  
**Hb:** Hemoglobin  
**IFN- $\gamma$ :** İnterferon-gama  
**IL-1- $\alpha$ :** İnterlökin-1- alfa  
**KAT:** Katalaz  
**KMT:** Kuru Madde Tüketimi  
**MDA:** Malondialdehit  
**NEFA:** Non-Esterified Fatty Acids  
**NDF:** Nötral Deterjan Fiber  
**RBC:** Kırmızı Kan Hücreleri  
**RNT:** Reaktif Nitrojen Türleri  
**ROT:** Reaktif Oksijen Türleri  
**SNİ:** Sıcaklık Nem İndeksi  
**SOD:** Süperoksit Dismutaz  
**TAK:** Toplam Antioksidan Kapasite,  
**TNF- $\alpha$ :** Tümör Nekroz Faktörü alfa,  
**UYA:** Uçucu Yağ Asitleri  
**ÜÇE:** Üzüm Çekirdeği Ekstraktı  
**YYO:** Yemden Yararlanma Oranı  
**WBC:** Total Lökosit Sayısı

## 8. EKLER

EK-1

T.C.  
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

### ENSTİTÜ YÖNETİM KURULU ARA KARARI

#### OTURUM TARİHİ

04.02.2020

#### OTURUM SAYISI

2020/05

#### **GELEN EVRAK: 01**

Veteriner-Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Doktora öğrencisi Emin ÜRKMEZ'in Doktora Tez önerisi ile ilgili 03.02.2020 tarih ve 474 sayılı yazısı görüşmeye açıldı.

Yapılan görüşmeler sonunda; Veteriner-Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Doktora öğrencisi Emin ÜRKMEZ'in "Üzüm Çekirdeği Ekstraktının Sıcak Stresi Altındaki Holstein Irkı Buzağılarda Büyüme Performansı ve Oksidatif Stres Üzerine Etkisi " isimli tez önerisinin U.Ü. Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğinin 39/1 maddesi uyarınca uygun olduğuna oy birliği ile karar verildi.

Kaportacı  
Süheyla ALAS  
Enstitü Sekreteri V.

EK-2

T.C.  
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU (HADYEK)

---

Sayı: B.30.2.ULU.0.8Z.00.00/17

28.01.2020

Konu: Araştırma Projeniz

Sayın Prof. Dr. Hakan BİRİCİK

Yürütücüsü olduğunuz “Üzüm Çekirdeği Ekstraktının Sıcak Stresi Altındaki Holstein Irkı Buzağılarda Büyüme Performansı ve Oksidatif Stres Üzerine Etkisi” isimli çalışmanız Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu’nun 28.01.2020 tarihli toplantısında görüşülmüş olup kurul kararı ekte sunulmuştur. Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof. Dr. Gökhan GÖKTALAY  
HADYEK Başkanı

T.C.  
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU  
Görüle Yerleşkesi, 16059 Nilüfer/ BURSA-TÜRKİYE  
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI

<b>BAŞVURU BİLGİLERİ</b>	ARAŞTIRMANIN ADI	<i>Üzüm Çekirdeği Ekstraktının Sıcak Stresi Altındaki Holstein Irkı Buzagalarda Büyüme Performansı ve Oksidatif Stres Üzerine Etkisi</i>
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ KURUMU	Prof. Dr. Hakan BİRİCİK BUÜ Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları AD
	YARDIMCI ARAŞTIRICILAR	Dokt. Öğr. Emin ÜRKMEZ
	ARAŞTIRMANIN NİTELİĞİ	Emin ÜRKMEZ'in Doktora Tez Projesi
	ARAŞTIRMANIN SÜRESİ	Nisan 2020 – Nisan 2023
	KULLANILACAK HAYVAN TURU VE SAYISI	75 Adet Dişi – Erkek Siğir

<b>DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER</b>	<b>Belge Adı</b>	<b>Tarihi</b>
	ARAŞTIRMA BAŞVURU FORMU	09.01.2020

<b>KARAR BİLGİLERİ</b>	<b>Karar No : 2020 - 02 / 01</b>	<b>Tarih : 28.01.2020</b>
	<p>Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma projesi gerekçe, amaç ve yöntemler dikkate alınarak görüşüldü ve ilgili belgeler incelendi. Projenin etik açıdan uygun olduğuna, çalışmanın aşağıdaki hususlar dikkate alınarak yürütülmesine ve sorumlu araştırmacıya iletilmesine oy birliği/oy çokluğu ile karar verildi.</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1) Projede herhangi bir değişiklik gerektiğinde kurulumuzdan onay alınması.</li><li>2) Projede çalışacağı bildirilen araştırmacılar değişikliği olduğunda kurulumuzdan onay alınması.</li><li>3) Deney hayvanları üzerinde yapılacak girişimin başlangıç ve bitiş tarihinin bildirilmesi.</li><li>4) Çalışma süresinde tamamlanamaz ise ek süre talebinde bulunulması.</li><li>5) Çalışma tamamlandığında sonuç raporunun gönderilmesi.</li></ol>	

**ETİK KURUL BİLGİLERİ**

**ÜYELER**

Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	İlişki (*)	İmza		Düşünceler
				Kabul	Ret	
Prof. Dr. Gökhan GÖKTALAY Başkan	Tıp- Farmakoloji	Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Prof. Dr. Erdoğan ŞENDEMİR Üye	Tıp- Anatomi	Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Dr. Öğr. Üyesi Sezer ERER KAFA Üye	Tıp - Tıp Tarihi ve Etik	Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Prof. Dr. Murat YALÇIN Üye	Veteriner-Fizyoloji	Veteriner Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Doç. Dr. Özgür ÖZYİĞİT Üye	Veteriner-Patoloji	Veteriner Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Prof. Dr. Aydın IPEK Üye	Ziraat- Zootekni	Ziraat Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Prof. Dr. Nilüfer ÇINKILIÇ Üye	Fen Edebiyat - Biyoloji	Fen Edebiyat Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Asiye Işıl SEZER Üye	Sivil Toplum Kuruluş Üyesi	Diş Hekimi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Filiz KUNLAR Üye	Sivil Üye	Emekli	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Faruk KÜÇÜKYILDIZ Üye	Veteriner Hekim	BUÜ-DEHYUAM	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			

## 9. TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın hayata geçirilmesi ve tüm aşamalarında bana yol gösteren, desteğini eksik etmeyen, yetişmemde büyük emeği olan başta saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Hakan BİRİCİK olmak üzere, doktora sürecim boyunca sürekli yanımda olan ve destek veren Doç. Dr. Çağdaş KARA ağabeyime, her konuda desteklerini hissettiğim Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı'ndaki tüm hocalarıma, tez çalışmamın istatistiksel analizlerinde ve yorumlanmasında yardımcı olan Prof. Dr. Serdal DİKMEN'e, laboratuvar çalışmalarında yardımcı olan Prof. Dr. Musa Özgür ÖZYİĞİT ve Veteriner Hekim Serkan ALBAY'a, tez çalışmamın gerçekleşmesi için tüm imkanlarından yararlanma fırsatı veren İtimat Süt Çiftliği yönetimi ve çalışanlarına, tez çalışmama maddi destek sağlayan Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne, tez çalışmamda kullandığım ürünü tedarik eden Faruk DURUKAN'a teşekkürlerimi bir borç bilirim. Ayrıca tez çalışmamın gerçekleşmesinde emeği geçen ve yardımlarını esirgemeyen Veteriner Hekim Burak ÖZDEMİR, Veteriner Hekim Fatih Hira AYTEKİN ve Veteriner Hekim Merve YILDAZ'a teşekkürlerimi sunarım. Son olarak bana her konuda destek olan, sürekli kararlarımın arkasında olan ve bugünlere gelmemde çok büyük emeği olan annem Emine ÜRKMEZ ve babam Mustafa ÜRKMEZ'e sonsuz teşekkür ederim.

## 10. ÖZGEÇMİŞ

İlkokul eğitimini Adasarhanlı İlköğretim Okulu'nda, ortaokul eğitimini Edirne Karaağaç Yatılı İlköğretim Bölge Okulu'nda, lise eğitimini ise Keşan Yusuf Çapraz Anadolu Lisesi'nde tamamlamıştır. 2011 yılında Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ne başlamış ve 2017 yılında fakülteyi dönem ikincisi olarak tamamlayarak veteriner hekim ünvanını kazanmıştır. Aynı yıl Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı'nda doktora eğitimine başlamıştır. Doktora sürecinde çeşitli hayvan türlerini kapsayan birçok akademik çalışmada bulunmuştur. Doktora eğitimi süresince ulusal ve uluslararası nitelikte kongrelere katılmış, 6. Uluslararası Sürü Sağlığı ve Yönetimi Kongresi'nde sözlü bildiriler arasında ikincilik ödülü kazanmıştır. 2022 yılında doktora eğitimini tamamlayarak Dr. ünvanını kazanmıştır.