TC
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TÜRK SİYAH ALACA SAĞMAL İNEKLERDE GECE AYDINLATMASININ SÜT VE KAN MELATONİN DÜZEYLERİNE ETKİLERİ

Rukiye GARİP

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOKİMYA (VETERİNERLİK) ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Nuri BAŞPINAR

KONYA-2021

ÖNSÖZ

Melatonin (MLT), öncelikle büyük oranda pineal bezde (epifiz bezi) daha az oranda da ekstra pineal hücrelerde sentezlenebilen bir moleküldür. Başta bakteriler, mantarlar ve bitkiler olmak üzere taksonomik olarak birbirine uzak birçok organizmada da bulunduğu bildirilmektedir. Ayrıca MLT, metoksitriptamin, asetilformilmetoksikinuramin ve asetilmetoksikinuramin gibi birçok biyoaktif metabolitin de kaynağıdır. Melatoninin sentez ve salınımını düzenleyen en önemli faktör ışıktır. Pineal bez hücrelerincemelatonin sentezi pinealosit hücrelerinin uyarı eşiği ve süresiyle alakalı olarak azalır veya artar.

İnek sütünde de bulunan MLT, insan sağlığı üzerinde olumlu etkilere sahiptir. Işık değişkenleri, sağım zamanı ve yılın mevsimi gibi faktörlerin, sütteki MLT düzeylerine önemli etkilere sahip olduğu bildirilmektedir. Süt verimini azaltmaksızın MLT düzeyleri yüksek süt üretimi hem hayvan sağlığı hemde ekonomik yöndenönemli katkılar sağlayabilir.

Gece aydınlatması, günümüz robotik sağım ünitelerinin bulunduğu modern hayvancılık işletmelerinde, günün her bir saatinde iyi işleyen inek hareketliliğinin sağlanarak verimin artırılabilmesi ve işletme güvenliği açısından çok önemlidir. İşletmelerde en uygun gece aydınlatması ineklerin kendi memesi ve diğer ineklerin memelerine kazara basma gibi istenmeyen durumların azaltılması yönünden de bir zorunluluktur.

Araştırmanın gerçekleştirilmesinde katkıları olan; SÜ Biyokimya Anabilim Dalı tüm öğretim üyelerine ve Araş. Gör. Beyza SUVARIKLI ALAN'a, MKÜ Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Pınar COŞKUN'a, somatik hücre sayımında yardımcı olan SÜ Veteriner Fakültesi Klinik Öncesi Bilimler Bölüm Başkanı Prof. Dr. Hasan Hüseyin HADİMLİ'ye, SÜ Veteriner Fakültesi Prof. Dr. Hümeyra ÖZGEN Araştırma ve Uygulama Çiftliği Veteriner Hekimleri ile çiftlik çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Rukiye GARİP
Konya 2021

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER iii
SİMGELER VE KISALTMALAR iv
GRAFİK LİSTESİ v
TABLO LİSTESİ v
ŞEKİL LİSTESİ vi
ÖZET vii
SUMMARY viii
1. GİRİŞ 1
1.1. Melatoninin Biyosentezi 1
1.2. Melatonin Reseptörleri 6
1.3. Melatoninin Vücutta Bulunuşu ve Hayvancılıkta Kullanımı 8
1.4. Fotoperiyodun Melatonin Sentezine Etkisi 10
1.5. Işık Türü, Şiddeti ve Süresinin Melatonin Sentezindeki Rolü 12
1.6. Süt Melatonini 16
2. GEREÇ VE YÖNTEM 23
2.1. Hayvan ve Yem Materyalleri: 23
2.2. Süt Numune Alım Dönemleri: 25
2.3. Kan Numune Alımı: 26
2.4. Somatik Hücre Sayılarının (SHS) Belirlenmesi: 26
2.5. Süt İçerik Analizi: 27
2.6. Işık Uygulaması: 28
2.7. Isı ve Nem Ölçümleri: 29
2.8. Süt Melatonin Düzeylerinin Analizi: 30
2.9. İstatistik Analizler: 31
3. BULGULAR 32
4. TARTIŞMA 42
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 48
6. KAYNAKLAR 50
7. EKLER 59
8. TURNİTİNRAPORU 62
9. ÖZGEÇMİŞ 63

SİMGELER VE KISALTMALAR

%: Yüzde

µl: Piko litre

AAAD: Aromatic amino acid decarboxylase

AANAT: Aralkylamine N-Acetyltransferase

ASMT: N-acetylserotonin O-methyltransferase

CAA: Canlı ağırlık artışı

cAMP: Adenilsiklaz

D: Karanlık (Dark)

DHI: Sütçü Sürü Islahı (dairy herd improvement)

DNA: Deoksiribo nükleik asit

FSH: Folikül uyarıcı hormon

GC: Granulosa cell (hücresi)

HIOMT: Hidroksi indol-O-metiltransferaz

HRP: Horse radish peroxydase

HTP: Hidroksitriptofan

IGF1: İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF) (Insulin-like growth factor)

KMT: Kuru madde tüketimi (DMI: Dry matter intake)

L: Aydılık (Light)

LDPP: Uzun gün fotoperiyodu

LED: Işık yayan diyot (Light Emitting Diode)

LH: Luteinize edici hormonu

Lüx: Lüks

ml: Mililitre

$ML_{1:}$ Melatonin reseptörü 1

$ML_{2:}$ Melatonin reseptörü 2

$ML_{3:}$ Melatonin reseptörü 3

MLT: Melatonin

mRNA: Messenger ribonükleik asit

NAT: Asetil Transferaz

ng: Nanogram

nm: Nanometre

NO: Nitrik oksit

OSS: Otomatik sağım sistemi (automatic milking system)

pg: Piko gram

RNA: Ribo nükleik asit

ROS: Reaktif oksijen türleri (reactive oxygen species)

SCN: Supra kiazmatik nükleus

SDPP: Kısa gün fotoperiyodu

SHS: Somatik hücre sayısı (SCC: Somatik cell count)

SNAT: Serotonin *N*-acetyltransferase

ST: Suni tohumlama

TDC: triptofan dekarboksilaz

TPH: Triptofanhidroksilaz

UHT: Ultra high temperature (Ultra Yüksek Isı)

WBC: Beyaz kan hücreleri (White blood cell)

α: Alfa

β: Beta

GRAFİK LİSTESİ

Grafik 3.1 Kontrol ve deneme gruplarında MLT ve süt parametreleri değişimi.

Grafik 3.2 MLT ve süt parametrelerinin 1. 5. ve 10. gün değişimleri.

Grafik 3.3 Sabah serum MLT gün değişimi.

Grafik 3.4 Akşam serum MLT gün değişimi.

Grafik 3.5 Sabah süt MLT gün değişimi.

Grafik 3.6 Akşam süt MLT gün değişimi.

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1 Seçilen hayvanlara ait yaş ve laktasyon günleri.

Tablo 2.2 Kaba ve konsanre yem karışım oranları.

Tablo 2.3 Kaba yemim (TMR) kiziksel ve kimyasal analiz sonuçları.

Tablo 2.4 Konsantre (Pelet) fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları.

Tablo 3. 1 Serum ve süt MLT düzeyleri (pg/ml) ile süt SHS (ortalama ±standart hata).

Tablo 3. 2 Tüm deneme guplarında süt parametreleri ortalama düzeyleri (ortalama ±standart hata).

Tablo 3.3 Kontrol deneme 5. gün sabah akşam süt MLT ve süt kalite Parametreleri Arasındaki Korelasyonları.

Tablo 3.4 Kontrol deneme 10. gün sabah akşam süt MLT ve süt kalite parametreleri korelasyonlar.

Tablo 3.5 Kontrol deneme 15. gün sabah akşam süt MLT ve süt kalite parametreleri arası korelasyonlar.

Tablo 3.6 Serum MLT düzeyleri (pg/ml, ortalama±standart hata)

Tablo 3.7 Süt MLT düzeyleri pg/ml.

Tablo 3.8 Kontrol ve deneme gruplarında SHS (*x 1000) düzeyleri.

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.1.1 Pineal bezdeki MLT sentezinin enzimatik kontrolü (Çam ve Erdoğan 2003).

Şekil 1.1.2 Melatoninin molekülünün kimyasal yapısı ve formülü (Demirhan 2011, Cardinali 2016).

Şekil 1.1.3 Melatonin sentezi (Cardinali 2016).

Şekil 2.1 Denemede kullanılan kırmızı led ampül ışığının dalga boyu.

Şekil 7.1. Araştırmaya alınan hayvanlar

Şekil 7.2. Işık yalıtımı yapılmış ahır pencereleri

Şekil 7.3. Kuyruk venasından kan alımı

Şekil 7.4. Karanlık barınak ortamı

Şekil 7.5. Kan alımı

Şekil 7.6. Süt numunesi alınımı (sağ ön meme başından)

Şekil 7.7. Işık uygulaması

Şekil 7.8. Işık uygulaması

Şekil 7.9. Işık uygulaması

Şekil 7.10. Somatik Hücre Sayımı

Şekil 7.11. Somatik Hücre Sayımı

Şekil 7.12. Süt ve serum hazırlama

Şekil 7.13. Somatik Hücre Sayımı

Şekil 7.14. Süt analizi

Şekil 7.15. Isı ve nem ölçümleri

Şekil 7.16. Araştırmada kullanılan Power LED

Şekil 7.17. Işık ölçüm cihazı (IL 1700 radiometre)

Şekil 7.18. Nem ölçer

ÖZET

TC SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Türk Siyah Alaca Sağmal İneklerde Gece Aydınlatmasının Süt ve Kan Melatonin Düzeylerine Etkileri

Rukiye GARİP
Biyokimya (Veteriner) Anabilim dalı
Yüksek Lisans Tezi/ Konya 2021

Bu çalışmada kırmızı ışıkla aydınlatmanın, kan-süt melatonin (MLT) düzeyleri ile süt kalitesi üzerine etkilerinin araştırılması amaçlandı. Deneme Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesine bağlı Hümeyra Özgen Araştırma ve Uygulama Çiftliğinde yetiştirilmekte olan laktasyondaki 6 baş siyah alaca sağmal inek üzerinde gerçekleştirildi. Onbeş gün gece aydınlatması uygulanmayan kontrol döneminden sonra takip eden 15 günlük deneme süresinde gece aydınlatması 652 nm dalga boylu kırmızı ışık yayan LED ampüllerle sağlandı. Kontrol ve denemenin 5., 10., ve 15. günlerinde, gece sonunda sabah (06.00) ve gün sonunda akşam (18.00) süt ve kan örnekleri alındı.

Araştırma süresince gün uzunlukları ve maruz kalınan ışık şiddetleri örnek toplama saatlerinde ölçüldü. Numune alımı sırasında ortam sıcaklığı ve nem değişimleri kaydedildi. Kan ve süt numunelerinde MLT düzeyleri ELISA yöntemiyle Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Laboratuvarında gerçekleştirildi. Alınan süt numunelerinde somatik hücre sayısı (SHS) Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuarında ve süt içerik analizi ise Milkana cihazı yardımıyla gerçekleştirildi. Kırmızı LED ampuller ile gece aydınlatılmasının (652 nm) 12 saat boyunca kullanımında serum ve süt MLT düzeyleri ile süt parametrelerinin olumsuz etkilenmediği görüldü. Elde edilen veriler gün içi ve dönemsel olarak istatistiki karşılaştırmalar ile değerlendirildi.

Kontrol sabah grubunda serum ve süt MLT düzeyleri, 5., 10., 15. günlerde, sırasıyla 8,64±1,4;7,02±0,97; 8,71±2,3 ve 5,01±0,92; 5,23±0,35; 3,93±0,81 pg/ml olarak bulundu. Kontrol akşam grubunda serum ve süt MLT düzeyleri, 5. 10. ve 15. günlerde, sırasıyla 8,59±1,8; 7,53±2,14; 8,35±0,94 ve 6,91±1,73; 6,8±1,27; 3,67±0,97 pg/ml olarak elde edildi. Deneme sabah grubunda serum ve süt MLT düzeyleri, aynı günlerde, sırasıyla 10,93±2,06; 15,37±2,6; 11,25±1,71 ve 2,97±0,64; 5,7±1,06; 3,33±0,73 pg/ml olarak ölçülürken, deneme akşam grubunda 14,83±3,11; 14,5±3,57; 12,95±4,09 ve 4,42±0,61; 2,51±0,56; 2,48±0,79 pg/ml olarak elde edildi. İstatistiki olarak serum MLT düzeylerinin kontrol ve deneme grupları 10. günde 7.02±0.97'den 15.37±2.6'ya (P=0.030) yükselirken, kırmızı ışık uygulanan grubun 10. gününde süt MLT değerlerleri kontrol akşam grubunda 6,80±1,27 iken, deneme akşam grubunda 2,51±0,56 pg/ml olarak tespit edildi (P=0.031). Somatik hücre sayısı bakımından tüm gruplar değerlendirildiğinde süt MLT'de olduğu gibi 10. günde akşam grubunda kontrol (6,22±1,41) ve deneme (24,88±14,74) gruplarında çok önemli farklılık tespit edildi (P=0,001).

Gece barınak içi aydınlatmalarda 652 nm dalga boyuna sahip ışık ile 12 saat boyunca aydınlatma karanlıkta olduğu gibi kan MLT seviyesininde önemli düşüşlere yol açmadan kullanılmasında bir sakınca olmadığı belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Melatonin, Siyah Alaca, karanlık, kırmızı ışık, süt kalitesi.

SUMMARY

TR SELCUK UNIVERSITY
HEALTH SCIENCES INSTITUTE

Effects on Milk and Blood Melatonin Levels of Night Lighting in Turkish Holstein Cows

Rukiye GARİP
Department of Biochemistry (Veterinary Medicine)
Master Thesis / Konya 2021

In this study, it was aimed to investigate the effects of red lighting on blood-milk melatonin (MLT) levels and milk quality. The experiment was carried out on 6 lactating Holstein Dairy cows, which were being reared in Hümeyra Özgen Research and Application Farm, affiliated to Selcuk University Faculty of Veterinary Medicine. After a control period of 15 days in which night lighting was not applied, night lighting was provided by LED bulbs emitting red light with a wavelength of 652 nm during the following 15-day trial period. On the 5th, 10th and 15th days of the control and experiment, milk and blood samples were taken at the end of the night at 06:00 am in the morning and at the end of the day at 18:00 pm in the evening.

During the study, the length of the day and the light intensities exposed were measured during the sample collection hours. Ambient temperature and humidity changes were recorded during sampling. Melatonin levels in blood and milk samples were determined by ELISA method in Hatay Mustafa Kemal University Faculty of Veterinary Medicine Biochemistry Laboratory. In the milk samples taken, somatic cell count (SCC) was determined in Selcuk University Veterinary Faculty Microbiology Laboratory and milk content analysis were performed with Milkana device. It was observed that serum and milk MLT levels and milk parameters were not adversely affected in the use of red LED lamps (652 nm) at night for 12 hours. The obtained data were evaluated with statistical comparisons during the day and periodically.

Serum and milk MLT levels in the control morning group on the 5th, 10th and 15th days were found to be 8.64±1.4;7.02±0.97, 8.71±2.3 and 5.01±0.92; 5.23±0.35, 3.93±0.81 pg/ml, respectively. Serum and milk MLT levels in the control evening group on the 5th, 10th and 15th days were determined as 8.59±1.8, 7.53±2.14, 8.35±0.94 and 6.91±1.73, 6.8±1.27, It 3.67±0.97 pg/ml, respectively. While serum and milk MLT levels in the trial morning group on the same days were measured as 10.93±2.06, 15.37±2.6, 11.25±1.71 and 2,97±0,64; 5,7±1,06; 3,33±0,73, respectively; in the trial evening group, there were determined to be 14.83±3.11, 14.5±3.57, 12.95±4.09 and 4.42±0.61; 2.51±0.56, 2.48±0.79 pg/ml, respectively. Statistically, the serum MLT levels in the control and experimental groups at the 10th day were increased from 7.02±0.97 to 15.37±2.6 (P=0.030), while the milk MLT values at the 10th day of the red light group were recorded 6.80±1.27 in the control evening group and in the trial evening group it was determined 2.51±0.56 pg/ml (P=0.031). When all groups were evaluated in terms of somatic cell count, a significant difference was found in the control (6.22±1.41) and trial (24.88±14.74) groups in the evening group on the 10th day, as in milk MLT (P=0.001).

It was determined that there is no harm in using light with a wavelength of 652 nm in nighttime shelters for 12 hours without causing significant decreases in blood MLT level, as in the dark.

Keywords: Melatonin, Holstein, darkness, red light, milk quality.

1. GİRİŞ

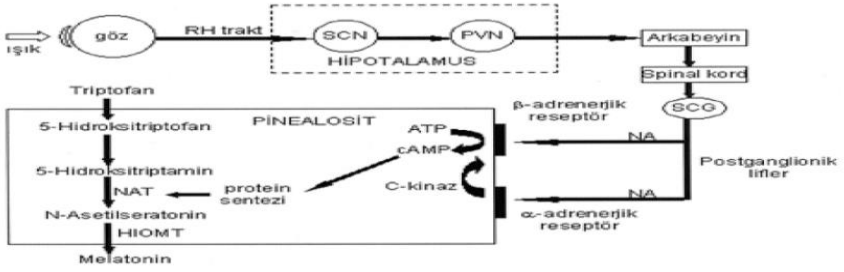
Kan melatonini (MLT) öncelikli olarak büyük oranda *Epifiz bezi* (*Glandula pinealis*) tarafından sentezlenir ve dolaşıma verilir. Epifiz bezinden bilimsel anlamda ilk olarak II. yüzyılda *Bergama* ve *Galen* bahsetmişlerdir (Çetin 2005). Fransız filozof ve bilim adamı Descartes ise 16.yüzyılda epifiz bezini "ruhun yeri" veya "ruhun gözü" olarak tanımlamıştır. Melatoninin pineal bezden ilk olarak keşfi ise 1958 yılında Lerner ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir. Kurbağa cildinde güçlü bir ağartıcı etkiye sahip, sığır epifiz bezi içindeki bir bileşiği izole ederek bilimsel ortama ilk çıkartan ve "**Melatonin"**adını veren bilim adamı Lerner'dir (Şener 2010). Molekül olarak 20. yüzyılın ortalarında keşfedilen MLT hormonu, 1980'lerden günümüze kadar kapsamlı bir bir biçimde araştırılmaktadır. Hormonun uyku üzerinde etkisini ilk çalışmaya başlayan bilim insanı Lerner 100 mg melatonini kendisine uygulayarak uyuşukluk dışında hiçbir yan etkisi olmadığını bildirmiştir (Lerner 1958). Fotoperiyodik ritmin memeliler için üremede önemli olduğu 1960'larda ortaya konulmuş, ancak insanlar için geçerli olmadığı iddia edilmiştir. Alfred Lewy 1981 yılında insanlarda gece parlak ışık uygulamasının MLT salınımını yavaşlattığını ilk kez ortaya koymuştur.

Canlılarda endojen sentezlenebilen, ışık uyarımına duyarlı lipofilik ve hidrofilik yapısından dolayı tüm hücre katmanlarında bulunan hormonal ve antoksidan etkileri öne çıkan melatoninin, insan ve hayvan sağlığına çok yönlü etkileriyle ilgili çalışmalar artarak devam etmektedir.

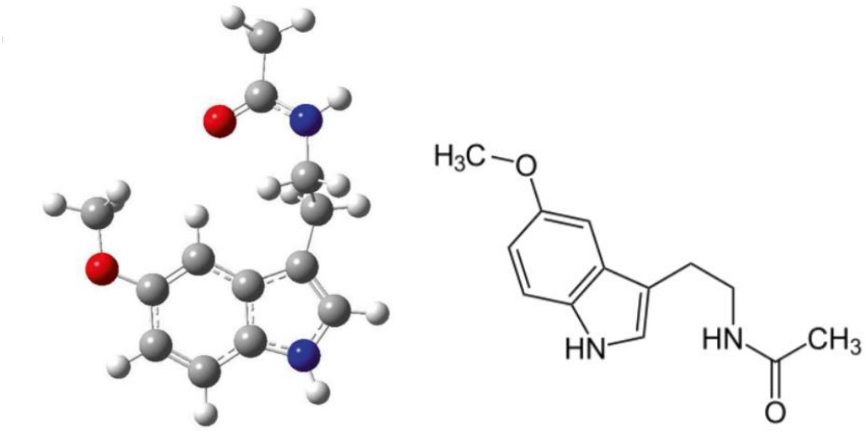
1.1. Melatoninin Biyosentezi

Melatonin tüm hücre ve hücre katmanlarında bulunan bir moleküldür (Şekil 1.1.2). Kan melatonin kaynağı pineal bezdir. Pineal bez (epifiz bezi) aşağı omurgalılarda amfibiaile balıklarda göz benzeri ışığa duyarlı bir yapıdadır. Kuşlarda ve sürüngenlerde ışığa direk duyarlı ve sekrotorik özellikte olan organ, memelilerde sadece sekrotorik özelliktedir. Memelilerde epifiz bezi pinealosit adı verilen özgün hücreler içerir. Retina kon ve rod adı verilen 2 tip fotoreseptör içeririr. Retinada bulunan fotoreseptörler ışık ile uyarılır. Konlar (viole 415 nm, mavi 450 nm, yeşil 550 nm, kırmızı 700 nm) ışığa duyarlıdır. Rod kon oranı sığırlarda 15/1, insanlarda 20/1 oranındadır. Ekstra retinal fotoreseptörler pineal

bez ve hipotolamusa yerleşiktirler (Lewis ve ark 2006). Melatonin nöromödülatör bir hormondur. Pineal bezce üretilir ve salınr. Pineal bez ve oküler doku her ikisinde de MLT sentez ve salınımı, karanlıkve ışık yoğunlu ile alakalı olarak sirkadiyen ritim ile parelellik gösterir. Pinel bez dolaşımdaki MLT'in ana kaynağıdır. Oküler vaskülerite ile göze yayılır. Retinal rod ve kon fotoresöptörlerindeki organik molekülleri uyarabilecek düzeyde enerjiye sahip fotonları absorbe ederler. Aydınlıkta hiperpolarize olan retinal hücreler MLT sentezini baskılarken, karanlıkta depolarize olarak pineal bezde sentezi başlatırlar. Uyarılma eşiği yaklaşık 482 nm dalga boyuna sahip ışık enerjisidir. İnsanlarda 460 nm ışığa maruz kalma MLT salgılanmasını baskılar. Pineal bezde melatonin üretim ve salınımı sempatik innervasyon ve norepinefrin ile gerçekleştirilir (Ostrin 2019). Işık intrisintik retinal ganglion hücrelerce nörokimyasal olay kaskatını başlatır. Memelilerde sirkadiyen ritimler supra kiyazmatik nükleus (SCN) tarfından yönetilir. Pineal bez, kan MLT sentez ve salınımıyla sirkadiyan ritimden sorumludur. Uygun karanlık uyarısı (>482 nm) monosinaptik retinohipotalamik yolla hipotalamustaki SCN'a ulaşır. Memelilerde SCN biyolojik saat olarak adlandırılır. Fotoreseptörler, karanlıkta hipotalamustaki SCN'yi uyarır. Uyarılar buradan torakospinal kordun intermediyolateral kolonuna ve buradanda *superiyor servikal gangliyon*'a ulaşarak daha sonra postgangliyonik sinirlerle pineal beze iletilir. Bez içindeki postgangliyonik sinir uçlarından salınan norepinefrinle pinealosit zarındaki *α1* ve *β1* adrenerjik reseptörler uyarılarak hücre içi cAMP yapımı artırılır. Bu da MLT yapım hızını düzenleyen ve aktiviteleri gece daha yüksek olan Aralkilamine N-Acetyltransferase (AANAT) aktivitesini artırır. Bunun sonucunda serotoninden MLT (Şekil 1.1.1) sentezi ve salgılanması gerçekleşir (Demirhan 2011, Özdemir ve ark 2018).



Şekil.1.1.1 Pineal bezdeki MLT sentezinin enzimatik kontrolü (Çam ve Erdoğan 2003).



Şekil 1.1.2 Melatoninin molekülünün kimyasal yapısı (Cardinali 2016) ve formülü (Demirhan 2011).

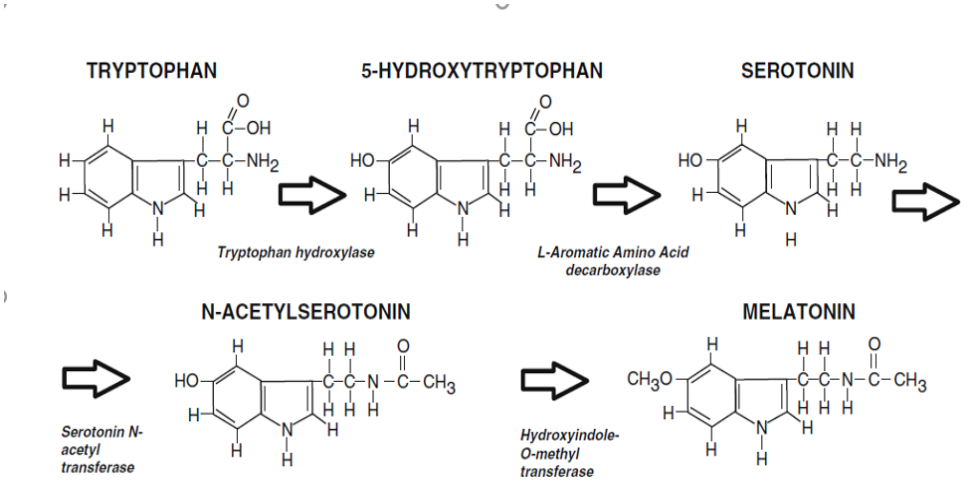
Pineal bezden salgılanan bir nörohormon olan MLT, diğer birçok doku ve hücreler tarafından da üretilir. Melatonin sentez ön maddesi olan triptofan bitkilerde ve hayvanlarda farklı yapıdadır. Ökaryotlarda MLT'in sentetik mekanizmalarının endosimbiyoz sonucu bakterilerden elde edildiği düşünülmektedir. Bununla birlikte, MLT'in mikroorganizmalardaki biyosentez mekanizmaları henüz tam olarak bilinmemektedir. Melatonin metabolizması, sitokrom hücrelerinden çoğalmış olan bu enzimatik süreçlerle oldukça karmaşıktır. Enzimatik değişimlerinin yanı sıra MLT, enzimatik olmayan ve serbest radikal tepkimeleriyle de metabolize edilir. Bu süreçlerin metabolik ürünlerinin örtüşmesi sonucu hangi sürecin baskın olduğunu belirlemek çoğu zaman zordur. Ancak, oksidatif stres altında, serbest radikal interaktif yol üzerinde özellikli etkili olabilir (Şener 2010). Melatonin pineal bez dışında kemik iliği hücreleri, retina ve gastrointestinal sistemde de bulunur (Bernard ve ark 1999). L-triptofandan başlayan MLT biyosentezi sonrasında triptofan-5-hidroksilaz ile 5-hidroksitriptofana veya 5-HTP'ye dönüştürülür. Sonrasında L-aminoasit dekarboksilaz tarafından aktif hormon serotoninine çevrilir. Enzim aktivitesi ışığın kontrolü altındadır. Daha sonra serotonin-N-asetiltransferaz (bazen aril alkilamin N-asetil transferaz) tarafından N-asetil serotonine, son olarak da hidroksi indol-O-metiltransferaz (HIOMT) tarafından 5-metoksi triptamine (MLT) dönüştürülür (Bubenik 2001). İnsan dışındaki türlerde L-triptofan ilavesi değişen oranlarda MLT artışına yol açmıştır (Bubenik ve Konturek 2011). Melatonin sentezinde hız belirleyici enzim Arilalkilamin N-

asetiltransferazdır (Kollman ve ark 2008). Bunun nedeni birinci hız sınırlayıcı enzim olan triptofan-5-hidroksilaz (diyet triptofanın serotonine dönüştürülmesini düzenleyen) miktarı nedeniyle olabilir. Böylece, MLT takviyesi dönüştürme oran sınırını aşmaktadır. 'Gerçek' oran sınırlayıcı enzim, serotoninden N-asetilserotonin'e dönüşümü sağlayan Arilalkilamin N-asetiltransferaz'dır (Şekil 1.1.3). Enzim aktivitesi ışığın varlığı ve şiddeti ile düzenlenir (Herrero ve ark 2007). Melatonin ışığın ve karanlığın dış düzenlemesi kontrolü altındadır ve retinadaki ışık kaynaklı sinyallerle bastırılır (Hardeland 2008).

Epifiz bezi, aşağı omurgalılarda, karada ve suda yaşayan canlılar (amfibia) ile balıklarda göz benzeri, ışığa duyarlı bir oluşum şeklindedir. Kuşlarda ve sürüngenlerde ışığa karşı direkt duyarlı ve aynı zamanda sekretorik özellikteki bu organ memelilerde ise sadece sekresyon yapıcı özelliktedir. Epifiz bezi kendi yapısına özel pinealosit adı verilen hücreler içerir. Pinealosit yapı foto reseptör hücreler ve glial hücrelerde oldukça etkili değişikliklere sebep olur. Serotonin ve MLT sentezi için ara metabolit görevi yapan ve kan beyin bariyerini kolayca geçen (Gomes ve ark 1999) 5-hidroksitriptofan, 5-hidroksitriptamine (serotonin) dönüştüğünde kan-beyin bariyerini geçebilme özelliğini kaybeder (Özçelik ve ark 2013).

Melatoninin biyosentezinde ışığın dalga boyu, yoğunluğu ve süresi etkilidir. Sığırlarda 5 ila 10 lüks ışık yoğunluğu MLT sentezinin engellendiği eşik olarak kabul edilmektedir (Muthuramalingam ve ark 2006). Karanlık süresi sentezi önemli ölçüde etkiler (Dahl 2010). Işık enerjisi dalga boyuna göre değişir; dalga boyu azaldıkça enerjisi artar. Kısa dalga boylu ışıklar enerjileri yüksek olduğundan MLT sentezini baskılar (Cajochen ve ark 2005, Asher ve ark 2015, Arnao ve Ruiz 2018). Melatonin amfiliktir, yani biyolojik membranlardan (Simonneaux ve Ribelayga 2003, Yu ve ark 2016) dolaşım sistemine ve kan dolaşımından süte serbestçe yayılabilir. Bu nedenle kan ve süt düzeyleri arasında bir ilişki vardır (Vanecek 1998, Castro ve ark 2011), bu da sütün tüketici için önemli bir MLT kaynağı olduğu anlamına gelir. Kollmann ve ark (2008), günde yaklaşık 32 kg/süt üreten ineklerin sütündeki MLT miktarının kan MLT düzeyinin yaklaşık %40'ı olduğunu bildirmişlerdir.

Quay (1964), epifiz bezindeki serotoninin gün boyunca yüksek seviyedeyken, gece boyunca düşük olduğunu ifade etmiştir. Epifiz bezindeki MLT ritminin ise, serotonin ritminin tersi olduğunu belirtmiştir. Çeşitli gözlemler, epifiz bezindeki indol ritminin de fotoperiyodik olduğunu, MLT'le birlikte N-Asetil Transferaz (NAT) enzim yoğunluğunda artış olduğunu göstermiştir. Işık azalınca NAT enziminin yoğunluğu kısa zamanda 25-100 katına çıkmaktadır. Beta adrenerjik blok ajanları uygulandığında veya ani ışık uygulamasında enzimin aktivitesi 3-5 dakika içinde yarıya inmektedir. Melatonin sentezinde etkili olan ikinci bir enzim olan Hidroksi İndol-O-Metil Transferaz (HIOMT) MLT sentezlenme süresini ayarlamada etkilidir (Şekil 1.1.3). Geceleri MLT düzeyi, bütün memelilerde, epifiz bezi, kan, serebro spinal sıvı ve idrarda artış göstermektedir (Tamarkin ve ark 1985, Arendt 1988, Emre 1993, Huether 1993, Baştan ve Küplülü 1995). Epifiz bezinin fonksiyonunda en fazla etkili olan ışık, iki önemli role sahiptir. Bunlardan ilki baskılayıcı rolüdür; eğer ışık yoğun miktarda olursa MLT sentezi baskılanır. Bu durum pineal bezin sirkadyen ritimde oluşuna bağlıdır ve bu denge hipotalamusta bulunan SCN tarafından sağlanmaktadır. Işığın ikinci rolü ise merkezi sinir sistemi aracılığıyla pineal ritmin çevreye adaptasyonunu sağlamaktır. İşte bu özelliklerden yola çıkarak MLT salınımı, günlük dışarıdan alınan fotoperiyodik etkilere göre belirlenebilmektedir (Arendt 1988, Emre 1993).



Şekil 1.1.3.Melatonin sentezi (Cardinali 2016).

1.2. Melatonin Reseptörleri

Melatoninin etkileri, hem hidrofilik hem de lipofilik özelliği olduğu için, sadece zara yönelik değildir. Sulu ortamda kısmen çözünmesi, hücrelerarası etkilerinin oluşmasına katkıda bulunur. Son çalışmalar MLT'in çekirdekte yüksek yoğunlukta bulunduğunu ve MLT için özelleşmiş bağlanma noktalarının olduğunu göstermiştir. Bu bulgulara göre MLT etkilerinin tiroid ve steroid hormonlara benzer şekilde çekirdekteki moleküler olaylarla alakalı olabileceği ileri sürülmüştür (Tamarkin ve ark 1985). Bir MLT antagonisti olan iodemelatonin ile yapılan radyo reseptor belirleme, laboratuar tespit ve radyografi çalışmalarında beyinde ve bazı omurgalı türlerde çevre dokularda MLT reseptörlerinin varlığı ve bu reseptörlerin G-proteinleri ile alakalı olduğu bildirilmiştir. Melatoninin ML_1 ve ML_2 olarak bilinen, zara bağımlı, iki tip reseptörü tanımlanmıştır (Penev ve Zee 1997).

Melatonin reseptörleri, MLT için bir ikilem oluşturan G proteinine bağlı reseptörlerdir. Bu reseptörler hücresel ortama bağlı olan integral etkileri ortaya çıkarır (Papis ve ark 2007, Reiter ve ark 2015). G proteinine bağlı MLT reseptörleri, Hayvanların karaciğer, deri ve yumurtalık gibi çeşitli organlarında bulunmuştur. Bu sonuçlar, steroid hormon reseptörlerinin intra integral lokalizasyonu ve G protein sinyal proteinlerinin yönlendirmesi gibi integral döngüsü nükleotidlerdeki varyasyonlardan oluşur (Talpur ve ark 2018). Melatonin reseptörü oluşumundaki değişiklikler ve endojen Melatonin oluşumundaki azalmalar giderek azalan MLT uyku sendromların oluşmasına yol açar. Son dönem yapılan çalışmalarda MT_1, MT_2 ve MT_3 olmak üzere üç tür MLT reseptörü olduğu ifade edilmektedir. MT_1 reseptörü insanlarda, MT_2 reseptörü hayvanlarda ve MT_3 reseptörü amfibilerde ve kuşlarda mevcuttur (Deborah ve ark 2001). Melatonin reseptörleri, SCN aşamasında MLT'in genetik sonuçlarından sorumlu olabilir. MT_1 reseptörleri genellikle nöronal atılmayı ve majör vazokonstriksiyonu kontrol etmek için kullanılır ve kanserde hücresel değişiklikleri kontrol eder; kanser üremesini ve metabolik fonksiyonlarını bozar. MT_2, MLT reseptör segmentlerinin uyarılması, SCN'de nöronal ateşin günlük ritimlerinde değişir, retinada dopamin ortaya çıkmasını önler, vazodilasyonu sağlar, lökosit üretimini önler ve direnci artırır (Talpur ve ark 2018).

İnsanlar (Niles ve ark 1999), sıçanlar (Soares ve ark 2003) dahil olmak üzere çeşitli memeli türlerinin yumurtalıklarında MLT ve ikiz reseptörünün (MT_1 ve MT_2) ekspresyonuile ilgili çalışmalar vardır. MT_1 ve MT_2reseptörleri sığır ve faretürlerinin üreme ve kalp dokularındada belirlenmiştir (Reppert ve ark 1994, Lee ve ark 2001, Dubocovich ve Markowska 2005, Wang ve ark 2012). Sağlıklıdoku ve hücreler dışında, MLT reseptör ekspresyonu malign veya kanserli hücrelerde de bildirilmiştir (Ekmekcioğlu 2014). Melatoninin ve reseptörleri MT_1 ve MT_2'nin üreme süreçlerindeki fizyolojik rolünün önemli olduğu vurgulanmaktadır. Melatoninin foliküler büyüme, oosit olgunlaşması, luteinizasyon ve erken pubertal gelişimde önemli bir role sahip olduğu gösterilmiştir (Okatani ve ark 1999, Van Den Hurk ve Zhao 2005, Chen ve ark 2013, Voiculescu ve ark 2014,Vandevoort ve ark 2015, Basini ve ark 2017). Memelilerde normal fizyolojik üreme süreçlerinde hem MT_1 hemde MT_2'nin hayati rolü olduğuiddia edilmektedir. Bu nedenle He ve ark (2016 a) MLT reseptörlerinden MT_1'in hem sığır hem de fare ovaryumlarında luteinize edici hormonu (LH) düzenleyici rolünü göstermişlerdir. Domuz ve keçilerde yapılan çalışmalarla da invitro MLT'in FSH foliküllerin gelişimde etkili olduğu ortaya konulmuştur (Wang ve ark 2012, Rocha ve ark 2013, He ve ark 2016 b, c). Melatonin ve reseptörlerinin rolü, çeşitli denek hayvanlarda kapsamlı bir şekilde araştırılmış olsada, çalışmaların büyük çoğunluğu MLT ve her iki reseptörünün etkileri üzerinedir. Çalışmaların çoğu, agonist ve antagonistinin eksojen takviyesi kullanılarak melatoninin modülasyonu ile gerçekleştirilmiştir. ML_1'in güçlü etkisi MLT ve FSH etkileşiminin foliküllerin büyümesini ve olgunlaşmasını etkilediği ve ML_1'in MLT'in aşağı yönde etkilerinden biri olduğu göz önüne alındığında, ayrı fizyolojik işlevinin açıklığa kavuşturulması gerekmektedir.

Melatonin sirkadiyen adaptasyon, uyku ve uyanıklık döngüsü ile büyümeyi içeren biyolojik süreçleri kontrol eder. Antioksidan etkiye ek olarak melatonin MT_1 ve MT_2 membran reseptörleri aracılığıyla biyolojik fonksiyonlarda etkilidir. Bu tür etkiler, hücre içi döngüsel nükleotidlerde ve vücut kalsiyum oranında değişiklik, bazı proteinlerin uyarılması, steroid hormon reseptörlerinin hücre içi lokalizasyonu ve G proteini gestülasyon proteinlerinin aracılığı iledeğişiklik oluşturmaktadır. Gün içinde MLT reseptörlerinde bazı değişiklikler meydana gelir. Melatonin reseptör görünümündeki ve endojen MLT

yapısındaki değişiklikler, günlük ritim uyku hastalıklarında da gözlenir. Melatonin, östrojen karşıtı olarak bağışıklık sistemini güçlendirir. Melatoninin belirli reseptörleri aracılığıyla hipotalamus–hipofiz bezi ekseninde gonadotropin bildirimi yoluyla yumurtalık hareketlerini kontrol ettiği yaygın olarak bilinen bir bulgudur (Tan ve ark 2014, Tian ve ark 2017).

1.3. Melatoninin Vücutta Bulunuşu ve Hayvancılıkta Kullanımı

Melatonin yüksek derecede lipofilik düşük derecede hidrofilik olmasından dolayı morfofizyolojik bariyerlerden (kan-beyin bariyeri) ve hücre zarından kolaylıkla geçme özelliğine sahiptir. Bu özelliğinden dolayı kandan diğer sıvılara hızla geçiş yapabilmektedir. Bu sıvılar serebrospinal sıvı, tükrük, gözün önkamara sıvısı, amniotik sıvı ve ovaryumdaki folliküler sıvılardır. Dolaşım sıvısındaki MLT'in büyük bölümü albümine bağlı haldedir. Hücre çekirdeğinde MLT için reseptörler vardır. Hücre çekirdeğinde toplanan MLT'in DNA'yı hasarlardan korumak, ayrıca RNA polimeraz enziminin aktivitesini artırmak suretiyle transkripsiyonu uyarmak gibi fonksiyonları olduğu da ifade edilmektedir. Kandaki MLT'in yarılanma ömrü oldukça kısadır. Bu süre yaklaşık 30-40 dakikadır. Gece dolaşımdaki MLT seviyesi yaklaşık 100 pg/ml'dir ve plazmadaki total MLT ise 500 ng'dır (Çevik ve Yurdaydın 1998).

Melatonin, gastrointestinal kanalda enterokromofin hücrelerde de sentezlenmekte ve postprandial olarak dolaşıma salıverilmektedir (Şener 2010). Sindirim sisteminde safradan salınan MLT safra asidinin zararlı etkilerine karşı mukozayı korur. Duedenumda ise epitel hücrelerindeki reseptörleri (ML_2) aracılığıyla bikarbonat salınımını artırır (Atasoy ve Erbaş 2017).

Nöronlarda ve pineal bezdeki biyokimyasal sinyal döngüsü insanda MLT anabolizmasını hızlandırır ve aynı zamanda MLT'in gün içi ritme bağlı olarak sentez ve salınımını sağlar. Gece 20.00-23.00 arası yükselmeye başlayan MLT düzeyi 01.00-05.00 arası pik yapar ve gündüz düşer. Sağlıklı bireylerde plazma MLT düzeyi gündüz 0–20 pg/ml, gece 20-200 pg/ml (ortalama 60-70 pg/ml)'dir. Sığır gece sütü 10 ile 40 ng/ml düzeylerinde MLT içermektedir (Valtonen ve ark 2005).

Romanini ve ark (2019), ineklerde yaptıkları çalışmalarında inek sütünde ortalamaMLT'inkonsantrasyonu 6.98 pg/ml bildirirken, tank sütünde 4,71 pg/ml ve UHT sütte 5,62 pg/ml gece sütü, MLT konsantrasyonu ortalama 14.87 pg/ml iken, toplam günlük sütte 6.98 pg/ml olarak ölçmüşlerdir. Kış sütü MLT konsantrasyonu, yaz mevsimine göre ortalama %74.7 daha yüksek olduğunu (13.89'a kıyasla 7.95 pg/ml) bildirmişlerdir. Düşük üretim grubunda kışın gece sütünde MLT düzeyini 41.94 pg/ml olarak ölçmüşlerdir.

İnsanda bir günde yaklaşık 30 mg MLT üretilir, bunun beşte dördü gece sentezlenir (Şener 2010). Melatonin yıkılımı ve kandaki miktarını etkileyen çeşitli faktörler bildirilmiştir. Oral MLT uygulamaları 30 dakika içinde emilerek karaciğere ulaşıp hidroksile edilir (Ölmez ve ark 2000). Kanda MLT miktarının 2/3'lük bölümü albümine bağlı olarak taşınır. Melatonin, karaciğerde, ilk olarak 6-hidrosi N-Asetil Triptamine daha sonrada 6-Sulfatoksi N-Asetil Triptamin veya az oranda glukuronik asit ile esterleştirilip hidroksimelatonin sülfata yıkımlanarak böbrekler vasıtasıyla atılır. Melatoninin idrar ile atılımının kan serum 6-sülfatoksi MLT miktarıyla alakalı olduğu bildirilmektedir. Melatonin%75 oranında sülfat bileşiklerine, %20-25 oranında da glukuronit bileşiklerine çevrilerek atılmaktadır. İdrarda %1 oranında değişmemiş MLT de bulunabilmektedir (Atasoy ve Erbaş 2017). Noradrenalin geri emilim inhibitörleri, serotonin geriemilim inhibitörleri ve nöroleptikler MLT sentezini artırmaktadır. β-adrenerjik antagonistler, monoamin tüketen ajanlar, triptofan eksikliği, benzodiyazepinler ve nonsteroidal antienflamatuar ilaçlar ise MLT'in kandaki miktarını azaltmaktadır (Şener 2010).

Plazma, tükürük, epifiz bezi ve biyolojik numuneler gibi farklı matriks türlerinde MLT ölçümü için GC-MS kimyasal iyonizasyon ve LC-MS/MS (Eriksson ve ark 2003) gibi analiz yöntemleri kullanılmaktadır. Ayrıca GC-ECD, HPLC-FLD (Egoshi ve ark 2000, Rizzo ve ark 2002, Cao ve ark 2007), HPLC-elektrokimyasal dedektör (Chanut ve ark 1998) ve HPLC kimyasal ışıldama (Lu ve ark 2002) yöntemleri de MLT analizi için kullanılan diğer analiz yöntemleridir. İnsan ve hayvan sütlerinde MLT düzeylerinin analizi için RIA, GC-MS ve ELISA yöntemleri kullanılmaktadır (Illnerova ve ark 1993, Kollmann

ve ark 2008). Diğer yandan analitik yöntemlerle sütte MLT tespiti çalışmaları sınırlı sayıdadır (Karunanithi ve ark 2014).

1.4. Fotoperiyodun Melatonin Sentezine Etkisi

Castro ve ark (2011) süt ineklerinde kan MLT düzeylerinin belirlenmesi amacıyla yaptıkları çalışmada fotoperiyodun 08.00-22.00 saatleri arasındaki zaman diliminde 16,2±2.3 pg/ml olan MLT seviyesinin, 21.00-23.00 arasında bir platoya ulaştığını (16,0±4,4 pg/ml), saat 01.00 de (25,4±5,6 pg/ml) pik konsantrasyonu gördüğünü ve saat 07.00'de tekrar bazal seviyesine düştüğünü belirlemişlerdir.

Süt sığırlarının süt üretimi ve sağlığında fotoperiyot uygulaması önemlidir (Dahl ve Petitclerc 2003, Dahl ve ark 2012, Crawford ve ark 2015). Süt ahırlarında 16:8 saatlik aydınlık-karanlık döngüsünün uzun gün fotoperiyodunun (LDPP) düvelerde vücut canlı ağırlığı artışını (CAA) yükseltiği gösterilmiştir (Petitclerc ve ark 1983). Fotoperiyot beslenme (KMT) (Pelletier ve Laurent 1989) ve süt verimi artışı için (Peters ve Tucker 1978, Dahl ve Petitclerc 2003) emziren süt ineklerinde de önemlidir.

İneklerin dünyayı nasıl gördüğünü tam olarak bilmek mümkün değildir, ancak günlük yaşamdaki görüşlerine ne kadar güvendiklerinin bilinmesi önemlidir. İneklerin görüşü hayvanlar için daha iyi bir ortam sağlamamıza yardımcı olabilir ve ayrıca yararlı bir yönetim aracı olarak kullanılabilir. Tüm memelilerin her iki gözünde ışığa duyarlı ve karanlıkta görmeyi mümkün kılan gün ışığında şekilleri ve renkleri görmeyi güçlendiren konileri vardır (Dannenmann ve ark 1985). İneklerin gözleri büyük ve yüksek miktarda reseprörlere sahiptir, bu da daha düşük ışık yoğunluklarında görmelerini kolaylaştırır (Phillips ve ark 2000). Sığırların gözleri ayrıca "*tapetum lucidum"* adlı biyolojik bir reflektör sistemine sahiptir. Bu sistem, ışığı ikinci kez yansıtarak loş ışıkta görsel hassasiyeti arttırır ve görsel hafızayı bir kez daha uyarır. Ancak bu sistemi geliştirmek için bazı görme keskinlikleri kayıp edilmiştir (Sjaastad ve ark 2003). Renk görüşünü sağlayan konilerdir (Dannenmann ve ark 1985) ve tüm primatlar trikomatik, üç çeşit koniye sahipken, sığırlarda ise göz sadece iki çeşit koniye sahip yani dikromatiktir. Bu nedenle ineklerin yeşil ve kırmızı arasında ayrım yapamadığına inanılmaktadır.

Bu durumda koniler, günışığında renkli görmeden daha ayrıntılı bir görüş vermektedir (Sjaastad ve ark 2003). Bugün ineklerin karanlıkta ne kadar iyi gördüğünü tam olarak bilmiyoruz ve sığırların renk ayrımı hakkında tam bilgi yoktur. Besicilerin bir kısmı gece aydınlatması için kırmızı ışık kullanmaktadır. Bu da kırmızı ışığın gece aydınlatmasında faydalı olduğunu düşündürmektedir (Olsson 2020).

Fotoperiyodun ineklerde geç laktasyon süt üretimi üzerine etkisi olmamıştır. Laktasyon döneminde düvelerin kuru madde alımı uygulamalardan etkilenmezken, kısa gün fotoperiyoduna maruz kalan ineklerin kuru madde alımı, uzun gün fotoperiyoduna maruz kalan ineklere göre daha fazladır. Kısa gün fotoperiyodu ile düvelerin yem tüketimi artmıştır. Kuru dönemde kısa gün fotoperiyodu, sonraki laktasyonda ineklerin süt üretimini ve düvelerin yem tüketimini geçici olarak artırdı. Ancak melatonin, kuru dönemde kısa gün fotoperiyodu gibi etki göstermediğini ifade etmişlerdir (Lacasse ve ark 2014).

Fotoperiyod, canlıların göz hizasındaki sanal ışık süresidir. Fotoperiyod bölünmüş uzun gün ve kısa günden oluşur. Gün uzunluğu 16-18 saat aydınlık ve 6-8 saat karanlık (LDPP), tam tersi ise (SDPP) dir. Kısa günde salgılanan MLT, diğer hormonların prolaktin, kortizol, IGF-1, GnRH salgılanmasına neden olur. LDPP'de yetiştirilen dişi buzağılarda vücuttaki düşük MLT ve yüksek prolaktin hormonları nedeniyle büyüme hızı arttı ve meme parankim hücreleri geliştiği görüldü. İneklerde SDPP (kısa gün)+ Prolaktin uygulaması, LDPP'ye (uzun güne) kıyasla kuru dönemde daha iyi etki göstermiştir. Çok doğum yapmış kuru dönem hayvanlar da doğum oranında kısa günde (SDPP) olumlu bir sonuçlar alındığı bildirildi. Fotoperiyodik uygulamada ışığın inek için 15 fc=162 lüks, mesafeninde 1m uzaklıkta olması önerilir. Kapalı ortamda 30 mum ışığı etkilidir ancak açık ortamda 45 fc etkisi gerekir (Lacasse ve ark 2014).

Fotoperiyodun insan çalışmalarında erkeklerde besin tüketimi miktarı artarken, dişilerde artmamıştır (Cho ve ark 2015). Akşamları mavi ışığa maruziyet ile açlık arasında bağlantı belirlenmiştir (Cheung ve ark 2016). Ayrıca mavi ışığın etlik piliç üretimi üzerinde olumsuz bir etkisi olmadığı da görülmüştür (Rozenboim ve ark 1999, Yang ve ark 2016). Akşam düşük yoğunluklu mavi ışığa maruz kalan insanlarda (465 nm, 7.02W/cm) ertesi sabah

uyku bozukları gözlemlenmiştir (Kayaba ve ark 2014, Zhang ve ark 2017, Azizi ve ark 2018).

Sığırlarda su içme sıklığı, yatma ve ayakta durmasürelerindeki davranışları ile kan MLT değişkenliği ile pozitif ilişki olabileceği bununda sirkadiyen ritimle ilgili olduğu ortaya konulmuştur. Melatonin seviyelerindeki bu değişiklik sirkadiyen ritim değişikliğine bağlanabilir. Yinede, bu davranışsal ve metabolik değişiklikler ile bunların altında yatan mekanizmaların geviş getiren hayvanlarda yapılacak yeni ileri çalışmalarda incelenmesi gerekmektedir. Özetle, ışığın farklı dalga boylarının MLT salgılanması üzerindeki etkileri tam olarak bilinmemektedir. (Williams ve ark 2017, Wickramasinghe ve ark 2019).

1.5. Işık Türü, Şiddeti ve Süresinin Melatonin Sentezindeki Rolü

Işık şiddeti ölçüm birimi lüxtür. Foot candles (fc) da metrekare başına düşen ışık yoğunluğunu tanımlarken, lüks ise metrekare başına düşen ışık şiddetini açıklayan bir birimdir. Bir fc 10.76 lükstür. Lümen, bir ışık kaynağından yayılan görsel ışığı ölçer (Janni 2000). Sıfır lüks, gün ışığı girişi veya ek ışık olmadan tamkaranlıktır. Günün karanlık saatlerin de otomatik sağım sistemine (OSS) yapılan ziyaret sayısındaki azalmayı önlemek için, birkaç İsveçli çiftçi ahırlarını OSS üretici firmanın piyasaya sürdüğü şekilde gündüz ve gece tam aydınlatma uygulamasına başlamıştır. Pettersson ve Wiktorsson (2004), süt ineklerinin gece boyunca karanlık (5-7 lüks) veya aydınlatılmış (yaklaşık 200 lüks) dinlenme alanını tercih edip etmediklerini test ettikleri çalışmada gönüllü sağım sisteminde kontrollü inek hareketliğine sahip 46 inek kullandılar. Sonuçta ahırda karanlık ve aydınlatılmış tarafın hayvanlar tarafından kullanımı arasında herhangi bir farklılık görülmediği, 5-7 lüks te genel sağım ve beslenme sıklığının veya öğünlerin etkilenmediği bildirmelerine karşın (Pettersson ve Wiktorsson 2004), Phillips ve ark (2000), ineklerin adım uzunluğunun düşük ışık yoğunluğunda adım sayısıazalırken, adım hızının arttığını belirlediler. Adım hızı ve sayısı 32 lükste en düşük ve ön ve arka bacakların hareket yayı 119 lüksde optimum olduğundan, inekler 32 ila 119 lüks arasındaki hafif yoğunluklarda en rahat yürüyüşesahip oldukları belirlendi. Phillips ve ark (2000) ineklerin karanlıkta yönlerini rahatça bulabileceğini ileri sürmektedir. Reksen ve ark (1999) Norveç'te geceleri loş ışığın (4-160 lüks, ortalama 36 lüks) ancak 12 saatlik bir fotoperiyotun kış aylarında daha yüksek süt üretimi ve daha iyi üreme

performansı elde edilebileceği sonucuna ulaşmışlardır. Gece ışığının yanı sıra 12 saatlik bir fotoperiyod kullanmanın doğal yaz ışık düzenini taklit ettiğini ve bu nedenle üreme özelliklerini uyardığını öne sürmüşlerdir. Günün karanlık saatlerinde işletmede ışık (yaklaşık 36 lüks) kullanılan sürülerde ineklerin doğal gebelik oranların arttığı, inek başına daha az suni tohumlama uygulandığı, ayrıca tohumlamadan sonra daha yüksek dölverimi alındığını gözlemlediler. Reksen ve ark (1999), Norveçli bir çiftçinin günün karanlık saatlerinde 12 saatlik uzun fotoperyod ile birlikte ışık kullanarak hayvan başına yılda 736 dolar kazanabileceğini hesapladılar.

Karanlık uyarısı ile salınan MLT memelilerde gevşeme ve uykuya neden olur. Bu nedenle, gece boyunca ışığın varlığı ineklerde dinlenmeyi engelleyebileceği konusunda bazı endişeler vardır (Lawson ve Kennedy 2001, Muthuramalingam ve ark 2006). Lawson ve Kennedy (2001) tarafından yapılan bir çalışmada, gece boyunca 50 lüksve daha yüksek yoğunluklu aydınlatmalarda düvelere MLT seviyesinin düştüğü gösterildi. İki saatlik 50 lüx aydınlatmanın ardından MLTsalınımın baskılanmasının ortadan kalktığı belirtildi. Yüksek yoğunluktaki ışıkların MLT salınımını daha uzun süre baskıladığı ortaya konulmuştur. Muthuramalingam ve ark (2006), karanlık olması tavsiye edilen alanlarda 10 lüks ve daha düşük yoğunluklu ışık kullanılmasının uygun olabileceğini önermektedirler. Süt ineklerinde MLT'i bastıran geceleri 50 lükseen az iki saatlik maruziyet, 5 veya 10 lüks kullanıldığında MLT seviyeleri üzerinde hiçbir etki göstermemiştir.

Melatonin salınımına aydınlatma süresine ek olarak, aydınlatma yoğunluğuda etkilidir (Dahl ve Petitclerc 2003, Anonim 2005). Doğal ışığa maruz kalmanın yanı sıra 17 saat boyunca 15 fc (1 fc=10.8 lüks) üzerinde ve 7 saat boyunca 5 fc'nin altında dışarıdan aydınlatma, serbest duraklardagebe ineklerde süt verimini artırmada etkili olmuştur. Işık kaynağı ve dalga boyu hayvanın performansını etkiler (Anonim 2005). Emziren ineklerin sürekli olarak günde 16 ila18 saat (6-8 saat karanlık) 120-200 lüks ışığa maruz bırakılması (Vanbaale ve ark 2005) gereklidir. Ayrıca, 17 saat doğal aydınlatma ve 350 lüks floresan lambanın tamamlayıcı aydınlatması, birden fazla yavru doğurmuş ineklerin yağlı süt üretimini artırır (Gavan ve Motorga 2009). Michigan süt çiftçiliğinden elde edilen veriler, geleneksel lambalar yerine ledli lambalar

veuzun gün uygulamasının süt üretimini artırdığını ve aydınlatma giderlerini azalttığını göstermiştir (Van Zweden ve ark 2018). Buna göre, beyaz ledler, floresan ve civa lambalara kıyasla daha uzun ışık yayma ömrü ve daha düşük enerji tüketimi nedeniyle şuanda tarımsal üretim ve hayvancılıkta yaygın olarak kullanılmaktadır (Harner ve Zulovich 2014, Alfernik 2015, Grajcar 2017, Pattison ve ark 2018,Van Zweden ve ark 2018). Beyaz ledler, insanlarda MLT salgılanmasını güçlü bir şekilde baskılayan çok sayıda mavi ışık içerir (Pimputkar ve ark 2009). İnsanlarda MLT salgılanmasının kısa dalga boylu ışığa (446-477 nm) maruziyetle baskılandığı bildirilmiştir (Brainard ve ark 2001).

Mavi ve kırmızı ışık ile MLT salgısı üzerine insanlarda yapılan çalışmada mavi ışık (479 nm) MLT salınımını baskılarken kırmızı ışığın (627 nm) bir etkisinin olmadığı belirtilmiştir. Genel olarak, ışık şiddeti MLT'in baskılanma düzeyinin ölçülmesinde önemli bir parametredir ve ışık uyaranının parlaklığı arttıkça, baskılama gücüde artış göstermektedir (Papamichael ve ark 2012).

Elsabagh ve ark (2020) tarafından mavi ledin MLT salınımı, beslenme davranışı ve büyümesi üzerindeki etkisi Holstein dişi süt buzağılarında ele alındı. Deney 1'de altı hayvan (8 haftalık, 97±4,1 kg CA), uzun gün fotoperiyod altında karanlıktan önce 7 gün boyunca 2 saat sarı veya mavi lede maruz bırakıldı. Deneme 2'de altı hayvan (8 haftalık, 88,5±4.8 kg CA) 3 hafta boyunca uzun gün periyodu karanlığından (mavi ışık kesimi) önce tüm gün boyunca beyaz bir ledden mavi ışığa veya 2 saat boyunca sarı bir lede maruz bırakıldı. Mavi ışık 2 saatlik uygulama sırasında MLT salgılanmasını hafifçe bastırdı, ancak gece MLT artışının zamanlamasını etkilemedi. Bununla birlikte MLT seviyelerindeki artış, mavi ledde sarı ledden daha yüksekti. Deneme 2, beyaz led, 2 saatlik uygulama sırasında MLT salgılanmasını tamamen bastırdı, ancak plazma MLT düzeyleri karanlıkla benzeretki gösterdi. Beyaz led yerine sarıya maruz kalan hayvanlarda ot alımı, geviş getirme süresi, su alma sıklığı ve vücut ağırlığı artışı daha yüksekti. Genel sonuçlara bakılınc auzun gün periyodlar altındaki hayvanlarda beyaz ledlerde mavi ışığa maruz kalmanın MLT salgılanmasını baskıladığını ve dişi süt buzağılarının gelişimini olumsuz etkileyebileceğini gösterdi. Çünkü plazma MLT düzeyleri karanlık dönemden 2 saat önce, beyaz renkli led MLT salgılanmasının baskılanması esas olarak beyaz led ışığından gelen mavi ışıktan

kaynaklanmaktadır. Bu etkinin mavi ışığın neden olduğu görme bozukluğundan mı yoksa MLT değişikliğinin metabolik bir sonucundan mı kaynaklandığı belirsizliğini koruyor (Elsabagh 2020).

İnsanlarda, akşamları kısa dalga boylu bir ışık olan (400-500 nm) görünür mavi ışığa maruz kalmak, sirkadiyen ritim bozukluklarıyla ilişkilendirilmiştir (Holzman 2010). Görünür mavi ışık, bilgisayarlardan, akıllı telefonlardan ve beyaz ledlerden bol miktarda yayılır. Kendinden aydınlatmalı portatif bir cihaz kullanırken uykudan 2 saat önce mavi ışık kalkanı gözlük takmanın gece idrarı MLT seviyelerinde artışa ve daha iyi uyku kalitesine neden olduğu gösterilmiştir (Ayaki ve ark 2016). Ek olarak, mavi ışığı engelleyen gözlükler kullanmak, led ekranlara maruz kalan insanlarda MLT baskılanmasını ve uyanıklığıazalttı. (Vander Lely ve ark 2015). Benzer şekilde Mortazavi ve ark (2018), akıllı telefonların ekranlarından yayılan kısa dalga boylu mavi ışığın filtrelenmesinin insanlarda uyku kalitesini artırdığını belirtmektedir. Fotoperiyodun neden olduğu fizyolojik değişikliklere esas olarak endokrin mekanizmaya özellikle MLT aracılık eder (Dahl ve ark 2000, Dahl ve Petitclerc 2003). Bu nedenle, beyaz ledlere maruz kalma endokrin sistemi, özellikle MLT'i ve ayrıca çiftlik hayvanlarının büyümesini ve üretkenliğini etkileyebilir (Brainard ve ark 2001, Lockley ve ark 2003, Brainard ve ark 2008). Ayrıca süt çiftliklerinde yaygın olarak bulunan beyaz led ışığına maruz kalmanın MLT salgılanması, beslenme davranışı ve dişi buzağılarda büyüme üzerindeki etkileri ile ilgili çalışmalr yapıldı. Doğal gün ışığından gelen mavi ışık salınımı gün batımının yaklaşmasıyla kademeli olarak azalır. Ancak yapay aydınlatma sisteminde ise mavi ışığa maruziyet karanlığın başlangıcına kadar devam eder. Sirkadiyen MLT ritmi doğal uzun gün fotoperiyodunda karanlıktan 2 saat önce başlar, ancak bu ritim yapay aydınlatma sisteminde nasıl olduğu bilinmemektedir. Kısa dalga boyu aralığı 465-485 olan ışıkların memelilerde MLT üretimini baskıladığı gösterilmiştir (Brainard ve ark 2001, 2008, Lockley ve ark 2003, Mainster 2006). Mavi led ışık (468 nm dalga boyu) 3–10 lüks değerinde ve bir göze yönlendirilmiş atta MLT salgılanmasını inhibe ettiğini bildirdiler (Murphy ve ark 2014). Ayrıca gece MLT seviyeleri koyunlarda 1 lüks (Arendt ve Ravault 1988) ve keçilerde 2.3 lüx (Deveson ve 1990) ışık yoğunluğu ile bastırılmıştır. Gece MLT'ini 5-10 lüks ışık yoğunluğu etkilememiştir. Ancak sütçü ineklerde gece

MLT düzeyini 50 lüks ışık yoğunluğunda (Muthuramalingam ve ark 2006) ve 50 lüks üzerindeki ışık yoğunlukları (Lawson ve Kennedy 2001) baskılandığını bildirmişlerdir. Daha genç düvelerin aksine, MLT 40-60 lüks gece ışığına maruz kalan yaşlı ineklerde değişmemiştir (Bal ve ark 2008). Son zamanlarda yetişkin ineklerde yapılan çalışmalarla, mavi monokromatik led ışığınMLT'in doza bağlı olarak bastırıldığı ve 175 lüks'e kadar olan ışık miktarının normal gece MLT artışını engellemediği tespit edildi (Murphy ve ark 2017). Melatoninin Işık yoğunluğuna duyarlılığın genç bireylerda daha fazla olduğu ve mavi led ışığın, ışık yoğunluğu (lüks) ve maruz kalma süresine bakılmaksızın genç hayvanlarda ani bir fizyolojik etkiye sahip olabileceği ifade edilebilir.

1.6. Süt Melatonini

İnek sütünde bulunan bir hormon olan MLT, insan sağlığı üzerinde olumlu etkilere sahiptir. Hollzman ve ark (2019) ın diyetle alınan vitamin takviyesi ve gece sağımının inek sütündeki MLT düzeyi üzerindeki etkilerini değerlendirmeyi amaçladıkları çalışmada, laktasyonun son döneminde 21 inek kullanıldı. Rasyona takviye rumen korumalı B vitaminleri, A, D3, E ve niasin (B3) vitaminleri ilave edildi. Deney süresini 10 gün olarak bildirildi. Süt örnekleri ilk iki gün boyunca vitamin takviyesi olmadan ve takviyenin başlamasından sonraki sekiz gün boyunca toplandı. Saat 05.00'da (gece) sağılan veya iki günlük sağımda üretilen toplam sütten takviye olmadan ve takviye ile üretilen süt numuneleri analiz edildi. Melatonin düzeyi ELISA kiti kullanılarak enzim immunoassay ile belirlendi. Diyetin vitamin C ile takviyesi toplam sütteki MLT konsantrasyonunu etkilemedi, ancak gece sütünde gündüz (6.57'ye 11.06 pg ml) sütüne göre %40.55 daha düşük bir konsantrasyon elde edildi. Gece sağılan sütte, günlük toplam sütten 1.43 ila 2.38 kat daha yüksek MLT düzeyi bulundu.

Pineal bezde MLT karanlık koşullarda gece boyunca yüksek düzeyde üretilir (Asher ve Corsi 2015). Farklı gece aydınlatma koşullarına sahip iki süt çiftliğinde gündüz ve gece süt örneklerini karşılaştırarak MLT düzeylerindeki farklılıkları değerlendirdi. Araştırıcılar doğal karanlık (karanlık-gece) kısa dalga boylu geceleri yapay ışık (gece aydınlatmalı) ticari süt çiftliklerinden 14 Holstein inekten saat 04.30'da (gece sütü) 12.30 saat (gündüz sütü) numuneler topladı ve MLT düzeyleri analiz edildi. Karanlık gece grubundan alınan gece sütü

numunelerinin MLT konsantrasyonları gece aydınlatılmış grupta sırasıyla 30.70±1.79 ve 17.81±0.33 pg/ml önemli ölçüde daha yüksek ($p<0.001$) ölçüldü. İlginç bir şekilde, gece aydınlatma koşulları gündüz MLT düzeylerini etkilemiştir. Burada karanlık gece koşulları altındaki değerler, gece aydınlatmalı koşullardan önemli ölçüde ($P<0.001$) daha yüksek (sırasıyla 5.36±0.33 ve 3.30±0.18 pg/ml) bulundu. Karanlık gece grubunda, gece aydınlatmalı gruba kıyasla önemli ölçüde daha düşük olan ($P=0.02$) SHS dışında süt verimi ve süt bileşiminde iki uygulama arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Her iki gruptaki inekler de önemli ($P<0,01$) günlük kalp ritmi sergiledikleri ifade edildi. Gece aydınlatılan ineklerin beslenme ve sağım zamanının etkilendiği, karanlık gece ineklerinde ise kalp ritimleri normal seyrettiği sonucuna varıldı. İneklerin suni ışığa maruz kalmasının sonucu aydınlık ve karanlık döngüsü değişti ve karanlık gece ineklerde daha düşük SHS değerlerine ve daha yüksek MLT düzeyi ortaya çıkarmıştır. Bu nedenle karanlık gece koşullarında, bu tür sütün gece ve gündüz ayrımının MLT ile doğal olarak zengin kronofonksiyonel süt üretilebildiği durumlarda SHS değerleri düşürülerek süt kalitesi iyileştiği bildirildi.

Wang ve ark (2021) metabolik analizler ile gündüz ve gece sütü arasında 36 farklı metabolit tanımladı. Gündüz sütünde daha yüksek düzeylerde N- asetil-d- glukozamin, sisakonitat, ve d-sorbitol tespit edildi. Bununla birlikte, analiz edilen diğer 33 metabolit dahil olmak üzere karbonhidratlar, lipitler, amino asit ve aromatik bileşikler gündüz sütünde gece sütüne göre daha düşük konsantrasyonlar gösterdi. Mevcut bulgular, gece sütü bileşiminin gündüz sütünden önemli ölçüde farklı olduğunu göstermektedir. Wang ve ark (2021) tarafında yapılan bildirimlerde sirkadiyen ritimdeki kayda değer değişiklikler ile süt bileşimietkilendi. Gündüz ve gece sütünün stratejik kullanımı ve sınıflandırılması için önemli kanıtlar sağlandığı bildirildi.

Süt üretim sistemlerinde mevsim boyunca sütün miktar ve kalitesindeki bazı değişikliklerin, plazma prolaktin konsantrasyonlarının azalmasıyla alakalı olarak artan plazma MLT konsantrasyonlarının aracılık ettiği fotoperiyottaki değişikliklere bağlı olabileceği savunulmuştur (Auldist ve ark 2007). Kış ve yaz (mevsim), yüksek ve düşük (süt üretimi) ile gece ve gündüz (sağım süresinin) MLT düzeyleri üzerindeki etkileri değerlendirdikleri çalışmada 30 ineğin sütündeki MLT,

16 çiftliğin dökme tank sütü ve iki mevsim boyunca 12 markanın ultra yüksek sıcaklıkta (UHT) işlenmiş sütü de değerlendirildi. Melatonin ortalama konsantrasyonu inek sütünde 6.98 pg/ml, tank sütünde 4,71 pg/ml ve UHT sütde 5,62 pg/ml olarak bildirildi. Gece sütünde MLT konsantrasyonu ortalama 14,87 pg/ml iken, toplam günlük sütte 6,98 pg/ml idi. Kışın süt MLT konsantrasyonu, yaz mevsimine göre ortalama %74,7 daha yüksekti (13,89 ve 7,95 pg/ml). Düşük süt üretim grubundan kışın gece sütü de daha yüksek bir MLTdüzeyine (41,94 pg/ml) sahip olarak ölçüldü. Aydınlık ile ilgili değişkenler, sağım zamanı ve yılın mevsimi gibi, sütteki MLT düzeyi üzerinde önemli etkilere sahip olduğu belirtildi. Melatonin bakımından zengin süt toplamak ve pazarlamak, nüfuslara ve tarımsal ticarete fayda sağlayabilir. Süt yağı içeriği, süt kalitesinin değerlendirilmesi için önemli bir kriterdirve süt sığırcılığı yetiştiriciliğinin temel hedef özelliklerinden biridir. Son çalışmalar, MLT'in lipit metabolizmasının düzenlenmesindeki önemini göstermiştir, ancak MLT'in sığır meme epitel hücrelerinde süt yağı sentezi üzerindeki potansiyel etkileri belirsizliğini korumaktadır. Burada, 10 μmol/l'de MLT desteğinin, lipid metabolizmasıyla alakalı genlerin mRNA ekspresyonunu önemli ölçüde düşürdüğünü ve daha düşük lipid damlacığı oluşumu ve trigliserit birikimi ile sonuçlandığı bildirildi. Ayrıca melatonin alt tip MLT reseptörü 1a (MT_1) gen ekspresyonunu önemli ölçüde artırdı ve MLT'in süt yağı sentezi üzerindeki olumsuz etkileri, seçici olmayan MT_1 MLT reseptörü alt tipi MLT reseptörü 1b (MT_2) antagonisti uygulanarak düşürüldü. Sonuçta seçici MT_2 antagonistleri MLT'in süt yağı sentezi üzerindeki olumsuz etkilerini değiştirmedi. Süt yağı sentezinin MLT inhibisyonunun mTOR sinyal yolu yoluyla meydana gelebileceği ortaya çıkarılmıştır. Daha ileri analizler MLT'in mTOR, 4 BP1 ve p70S6K'nın fosforilasyonunu sınırlayarak mTOR yolunun aktivasyonunu önemli ölçüde baskıladığını ve MLT'in süt yağı sentezi üzerindeki inhibisyonunun sığır meme epitel hücrelerinde mTOR aktivatörü MHY1485 tarafından tersine çevrildiğini ortaya koydu. Holstein süt ineklerinde yapılan in vivo deneyler, eksojen MLT'in süt yağı düzeyini önemli ölçüde azalttığını göstermiştir. In vitro ve in vivo çalışmalardan elde edilen veriler, MLT'in epitel hücrelerde MT_1 reseptörü aracılığıyla mTOR sinyal yolunu inhibe ederek süt yağı sentezini baskıladığını ortaya koydu (Wang ve ark 2019).

Sütteki SHS süte kandan geçmiş beyaz kan hücreleri ve meme bezi çeperini oluşturan epitel hücrelerden ibarettir (Tekeli 2005). Sütte bulunan SHS'nın önemli bir kısmı lenfosit, nötrofil ve makrofajdan oluşurken göreceli olarak daha az bir kısmı epitel hücrelerdir. SHS'nın kabul edilenden daha yüksek olması hayvanın yaşı, rasyon içeriği, laktasyon dönemi, sıcaklık ve diğer çevresel stres etkenleri gibi temel nedenlere bağlıdır. Ayrıca SHS'nin artışındaki en önemli sebep memede gelişen meme dokusunun yangısıdır (mastitis). Sağlıklı bir ineğin memesinden elde edilen sütün mililitresinde 150 000–200 000 hücre/ml'den az olması istenir. Meme dokusunda yangı oluştuğunda yangının şiddetine bağlı gelişen hücresel yanıta paralel olarak nötrofil sayısı artar. Sütteki lökosit ve epitel döküntülerindeki sayısal artış mastitise bağlıdır (Baştan 2010). Genel olarak günümüzde çiğ süt kalitesinin belirlenmesinde dünya genelinde somatik hücre sayısı önemli bir ölçüt olarak kabul görmektedir (Anitaş ve ark 2017). Deri altı MLT uygulanan ineklerde sadece süt SHS'sını azaltmakla kalmayıp aynı zamanda serum kortizol, WBC, lenfositler, serum IgG, IgM'yi azalttığı ve albümini arttırdığı bildirilmiştir (Yang ve ark 2017). Sürekli enjeksiyon uygulaması potansiyel bir enfeksiyon riski taşır ve aynı zamanda süt inekleri için stresli bir uygulamadır. Özellikle MLT'in ağızdan uygulanması MLT dağıtımı için daha iyi bir yöntemdir ve bu yöntem birçok hayvanda başarıyla kullanılmıştır. Ancak inekler geviş getiren hayvanlardır ve oral uygulama MLT'in rumeni geçmesi gerekir, ancak rumendeki sindirim enzimleri ve mikroplar melatonini metabolize edebileceğinden MLT'in biyoyararlanımını önemli ölçüde azaltabilir. Bu durumdan kaçınmak için mevcut çalışmada rumen bypass MLT beslemesi olarak adlandırılan yeni bir yaklaşım uygulanmıştır (Yao ve ark 2020).

Sütçü sürü ıslahında (DHI), bir ineğin süt üretim performansını değerlendirmek önemli bir indekstir (Shock ve ark 2015). Sütçü sürü iyileştirilmesinde sütteki somatik hücre sayısı (SHS), protein, yağ, laktoz ve kuru maddeyi önemlidir. Sütün kalitesini değerlendirmek için en önemli parametre, mililitre sütbaşına somatik hücrelerin, bağışıklık ile ilgili lenfositlerin ve dökülen yaşlanan meme epitel hücrelerinin toplam sayısını ifade eden SHS'dir. Aslında, beyaz kan hücreleri (WBC) toplam somatik hücre sayısının %99' unu oluşturur (Shook ve Schutz 1994). SHS sayıları, süt inekleri için meme sağlığı durumunu yansıtır (Caraviello ve ark 2005). SHS'deki artış, ineklerde olası mastiti gösteren önemli bir parametredir ve bu sadece üretimi etkilemekle kalmaz, aynı zamanda

sütün besin değerini de düşürür (Sert ve ark 2016, Kul ve ark 2019). Şu anda antibiyotikler, süt inekleri mastitis için geleneksel çarelerdir (Fejzic ve ark 2014). Ancak uzun süreli antibiyotik kullanımı, hayvanlarda ilaç direncinin artmasına ve ayrıca sütte bulunan ilaç kalıntılarının çevre kirliliğinin yanı sıra insan sağlığınada ciddi zararlar vermesine neden olmaktadır (Martinez 2009). Melatoninin meme epitel hücrelerini oksidatif stres ve inflamasyondan koruduğu, ayrıca mevcut mastitisin iyileşmesini desteklediği yönündedir (Yu ve ark 2016). Melatonin organizmalar için toksisitesi olmayan veya düşük olan çevre dostu bir moleküldür ve RBMF (rumen baypass melatonin beslemesinin) invaziv ve uygundur. Bu faktörlere dayanarak, süt çiftçilerinde mastitis tedavisi için antibiyotiklerin yerine Rumen baypass MLT beslemesinin kullanılmasını önerimiştir. Mastitis tedavisinin maliyetini düşürecek ve süt kalitesini iyileştirecektir. Süt kalitesini ve ineklerin sağlığını iyileştirmek için RBM ile beslemenin uygun olduğunu savunmuştur (Yao ve ark 2020).

MLT'in SHS üzerindeki etkilerini incelemek için 120 inek süt SHS'sine göre dört gruba ayrıldı. Her grupta ineklerin yarısına deri altı MLT uygulandı. Melatonin deri altı uygulanması süt SHS'sini önemli ölçüde azalttı. Potansiyel mekanizmayı ortaya koyabilmek için, MLT uygulamsından sonra kanlarının biyokimyasal ve immünolojik durumlarını değerlendirmek için nispeten yüksek SHS'ye sahip 20 inek seçildi. Melatonin ile tedavi sütteki SHS'yi önemli ölçüde azalttı, serum kortizol düzeyini de düşürdü. Albümin, alanin transaminaz ve laktatdehidrojenaz seviyelerini artırdı. Melatonin ile tedaviyi takiben, Ig G ve Ig M düzeyleri geçici olarak yükseldi ve sonrasında beyaz kan hücreleri ve lenfositler için gözlemlenen değişikliklere benzer şekilde önemli ölçüde azaldı. Sonuç olarak, MLT uygulamsı SHS'yi azaltarak süt kalitesini iyileştirdi. Bunun nedeni MLT ineklerde bağışıklık aktivitesini iyileştirmiş olabileceği belirtildi (Yang ve ark 2017).

Wu ve ark (2021), ineklerebir yıl gibi uzun süreli MLT uygulamasının süt SHS'sini %63,54 oranında azaltığını ve MLT'in süt SHS üzerinde böylesine büyük bir etkisinin daha önce bildirilmediğini ifade etmiştir.

Sütün kalitesini belirleyen önemli faktörlerden bir diğeri de içeriğindeki proteinleridir. Proteince zengin sütlerin besin değeri yüksek olmaktadır. Proteinler vücudun yapıtaşı olması yanında canlılar için ikincil enerji kaynağı konumundadır. Canlılarda ve özellikle yavrularda beslenme yoluyla yaşam kalitesini artıran süt,

proteinler yanında canlı vücudu tarafından sentezlenemeyen bazı esansiyel amino asitleri içinde bulundurur. Proteinler süt ekonomik değeri bakımından da büyük bir öneme sahiptir. Sütün içinde bulundurduğu protein miktarının fazla olması endüstüriel olarak da değerini artırmaktadır. Süt içeriğinde yer alan protein miktarı belirlenmekte ve üreticilere yapılan ödemeler ürünün kalitesi ile ilişkilendirilerek ilave primler ödenmektedir (Akıllı ve ark 2014). Yüksek kalite protein içeren inek sütünün ortalama proteini %3.5'lar düzeyindedir. Saf bir sıvı karışım olmayan inek sütü proteini, kazein, bağlı proteinleri, enzimler ve az miktarda azot içeren bileşiklerden oluşur (Fox ve McWeeney 2003). Sütte bulunan toplam proteinin yaklaşık %80'i kazeinden oluşmaktadır (Miller ve ark 2000).

Sütün yüzde yağ miktarı hayvanın türüne ırkına, sağım dönemine, mevsime, beslenmeye ve çevre koşullarına bağlı olarak değişkenlik gösterir. Sütteki yağ, su ile emülsifiye olmuş bir biçimde globül olarak asılı olarak bulunmaktadır. Sütteki yağın çok önemli bir kısmını trigliseritler az bir miktarını da fosfolipitler, serbest steroller, kolesterol, mumlar, serbest yağ asitleri, yağda eriyen vitaminler (A, D, E, K) oluşturur. Ayrıca çok sayıda farklı yağ asidi ve yağ asit türevlerini içerir (Miller ve ark 2000, Gehardt ve ark 2006).

Sütün temel karbonhidratı olan ve sentezi meme dokusunda gerçekleşen laktoz bir diğer süt kalite parametresi olarak kabul edilmektedir. Çiğ inek sütünde ortalama %4-5 laktoz bulunmaktadır (McCance ve Widdowson 1988). Sütte yağ dışında kalan kuru maddenin %54'ü laktozdur. Sütte az da olsa oligosakkarit, aynı zamanda laktaz enziminin laktozu hidrolize etmesi ile oluşan glukoz ve galaktoz bulunmaktadır. Sütteki laktoz miktarı süt kalitesinin değerlendirilmesinde olduğu gibi, mastitisli hayvanlardan elde edilen düşük laktoz içerikli sütün belirlenmesinde de önemli bir ayıraçtır. Bu yüzden laktoz içeriği tayini önem arz etmekte ve süt/süt ürünleri endüstrisinde, ürünlerin kontrolü için değerlendirilmektedir (Conzuelo ve ark 2010).

Sütün toplam kuru madde miktarı da sütün besin değerini belirlemesi nedeniyle kalite göstergesi olarak düşünülmektedir. Kuru madde miktarının yüksek olması süt ürünlerinin işlenmesini kolaylaştırırken süte ilişkin yapılan hilelerin saptanmasında da önemlidir. Bugün Türkiye'deki süt hayvancılığında yetiştiricilerinin gün ışığı aydınlatmasına ek olarak gece saatlerinde ışıkları açması zorunluluktur. Bu üretim için bir maliyet oluşturur, ancak bazı işletmeler

özellikle süt ineklerinin ahırlarında karanlık uygulamasının ekonomik olarak yararlı olabileceğini iddia etmektedir. Günümüz modern sayılabilecek ahırlarda ve hatta daha fazla otomatik sağım ünitesi olan sürülerde, günün her saatinde iyi işleyen inek hareketliliği üretimi optimize etmek için çok önemlidir. İnek hareketliliğinin düzgün yürümesini sağlamak için ışıklar önemli bir yönetim aracıdır. Gece aydınlatması, bağlantılı ahırlar arasında ineklerin geçişi ve diğer ineklerin memelerine istemeden basan inek vakalarını azalttığı da bilinmektedir. Her iki durumda ekonomik kazanç potansiyeli sağlar. Günümüzde ineklerin karanlıkta ne kadar iyi gördükleri veya çevrelerini hangi ışık yoğunluğunda ayırt ettikleri açık değildir. Bu sebeble gece ışığının gerçekten gerekli olup olmadığı araştırmalara dayalı ortaya konulmuş değildir. Işık ineklerin hormon döngüsünü, başta MLT döngüsünü değiştirebilir veya başka şekillerde stressoluşturabilir. Gece aydınlatması zorunluluk olsa bile hayvan sağlığı ve ürünleri bakımından en az olumsuzluk oluşturan ışıklandırma tercih edilmelidir (Anonim 2020).

Kan melatonin düzeylerinde belirleyici olan öncelikli olarak pineal bez melatonin sentezidir. Pineal bez MLT sentez enzimlerinin aktivitelerinin baskılanması aydınlık (ışık) uyaranının enerji seviyesi, yoğunluğu ve süresiyle ilgili olarak değişir. Hayvan türlerine göre değişen uyarı eşiğini aşan enerji seviyesine sahip fotonlar MLT sentezini engellerler. Düşük enerjili (uzun dalga boylu) fotonlar, uyarı eşiğini aşacak yeterli enerji seviyesine sahip olmadıklarından pineal bezde melatonin sentez enzim aktivitelerini baskılayamazlar. Bu çalışmada, 652 nm dalga boyuna sahip kırmızı ışıkla hayvan göz seviyesinde 50 lüks şiddetli ışık veren led ampüller ile 12 saat süresince gece aydınlatmanın, kan-süt MLT düzeylerine ve SHS ile süt kalitesi üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Hayvan ve Yem Materyalleri:

Çalışma, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Prof. Dr. Hümeyra Özgen Araştırma ve Uygulama Çiftliğinde (Konum: $38^0$02' 18" K, $32^0$30' 15" D) 5'er günlük alıştırma evresinden sonra 15'er günlük karanlık ve deneme grubu olmak üzere toplam 30 günde (3 Temmuz- 2 Ağustos 2020) gerçekleştirildi. Araştırmada, yaş, laktasyon dönemleri ve verimleri birbirine yakın olan 24 hayvan içinden 6 Holstein ırkı inek seçilerek deneye başlandı. Seçimde hayvanlardan yaşları 3 ile 9 yaş arası olan, süt verim düzeyleri ve doğum zamanları birbirine yakın olan hayvanlar tercih edildi (Tablo 2.1).

Tablo 2.1 Seçilen hayvanlara ait yaş ve laktasyon günleri

İşletme Hayvan No	Laktasyon gün	Yaş	Ortalama Süt Verimi kg/gün
1	95	9	21,61±0,60
7	60	8	28,26±0,26
8	249	7	24,31±0,70
13	58	3	26,03±0,46
14	48	7	22,45±0,53
16	149	4	23,73±0,59
Ortalama	**109,8**	**6,33**	**24,40 ±0,91**

Deneme süresince işletmeye ait yemleme programı uygulandı. Deneme boyunca kesif ve kaba yem içeriklerinde herhangi bir değişiklik uygulanmadı. Kaba ve kesif yem içerikleri ile besleme programı aşağıda sunuldu (Tablo 2.2, 2.3 ve 2.4). Yemleme işletmede, yaşama payı kaba yem ve konsante yem karması şeklinde ad libitum olarak verildi. Verim payı ise kesif yem olarak bireysel biçimde otomatik gönüllü sağım sistemi (GEA) tarıfından hayvanların önlerine sağımları sırasında verildi.

Tablo 2.2 Kaba ve kesif yem karışım oranları.

Yem maddesi	Miktarıkg	Rasyondaki %
Saman	3,0	15
Yonca	3,5	17,5
Mısır silajı	6,0	30
Kepek	0,5	2,5
Süt yemi	5,5	27,5
Pamuk Tohumu küspesi	0,5	2,5
Pancarposası	1,0	5
Vit Min premix	0,005	0,02
Tuz	0,005	0,02
Toplam	20.01	%100

Tablo 2.3 Kaba yem fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları.

FİZİKSEL ANALİZLER	
NumuneninAnaliz Sıra Nosu	226
Adı	TMR
Miktarı	3 kg
Geldiği yer	Çiftlik
Geldiği Tarih	09.09.2020
Ambalaj Şekli	Naylon Poşet
Görünüş	Normal
Renk	Normal
Koku	Normal
Yabancı Madde	Yok

KİMYASAL ANALİZLER		
	Doğal halde	Kuru Maddede
Kuru Madde.%	96,44	96,44
Ham Kül.%	6,76	7,01
Ham Yağ %	1,53	1,58
Ham Selüloz.%	36,23	37,57
Ham Protein.%	6,39	6,63
ME, kcal/kg	1544	1601

Tablo 2.4 Kesif (Pelet) yem fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları.

FİZİKSEL ANALİZLER	
Numunenin Analiz Sıra Nosu	33
Adı Miktarı	Pelet Yem 3 kg
Geldiği yer	Çiftlik
Geldiği Tarih	09.09.2020
Görünüş	Normal
Renk	Normal
Koku	Normal
Yabancı Madde	Yok

KİMYASAL ANALİZLER		
	Doğal halde	Kuru Maddede
Kuru Madde,%	91,15	91,15
Ham Kül,%	6,32	6,94
Ham Yağ,%	1,48	1,62
Ham Selüloz,%	8,11	8,89
Ham Protein,%	16,33	17,92
ME,kcal/kg	2564	2813

Deneye başlamadan önce hayvanlar karanlık dönem için işletmenin uygulamış olduğu ışıklandırma programına devam edilerek numune alımından 5gün önce alıştırma dönemine tabi tutuldular. Deney sonuna kadar yem, işçi değişikliği yapılmadı. Rutin uygulamalar dışında hiçbir uygulama gerçekleştirilmedi. 30 günlük araştırma süresince rasyon değişikliği uygulanmadı. Kan ve süt numune alım günlerinde kaba ve konsantre yem içeriklerinden prosedürlere uygun olarak numuneler alındı. Örneklerin içerik analizleri Selçuk Üniversitesi Hayvan Besleme Beslenme Hastalıkları Anabilim dalındaki analiz labaratuvarında gerçekleştirildi (Tablo 2.2, 2.3 ve 2.4).

2.2. Süt Numune Alım Dönemleri:

Süt örnekleri laktasyonun değişik evrelerinde birbirine yakın 6 sağmal inekten alındı. Deneme 1de 15 gün boyunca araştırmanın 5, 10, ve 15.günlerinde, gece sonu (sabah**:**06.00), gün sonu (akşam:18.00) süt örnekleri hayvan başına birerkez olmak üzere toplam 36 (6x2x3) adet 100'er ml numune sağ ön meme

başından toplandı. Kontrol grubu için 15 gün boyunca 5'er gün ara ile sabah ve akşam 3 keznumuneler toplandı (6x2x3=36). Işık uygulaması öncesinde ışık kaynakları işletmeye monte edilerek hayvanlar 5 gün boyunca alıştırma dönemine tabi tutuldu. Kontrol grubunda alınan numune miktarları ışık denemesi içinde toplandı. Sütte MLT düzeylerinin ölçümüiçin aşağıda belirtilen protokollereuygun biçimde ELISAyöntemi kullanıldı (Bioaassay Tecnology Labaratory firmasının katalogunda yer alan E00 51Sh'e göre).

2.3. Kan Numune Alımı:

Araştırma iki aşama halinde yürütüldü. Deneme başlamadan önceki beş gün ile karanlık ve aydınlık dönemler arası 5 gün alıştırma dönemi olarak kullanıldı. Kontrol uygulaması (aşama I) ve ışık uygulaması dönemi (aşama II) olan ikinci 15 günün başlamasından itibaren aynı hayvanlardan 5. gün, 10. gün, 15. günlerde sabah ve akşam sağımları öncesinde kan alındı. Tüm ineklerden toplam 72 adet (2x2x3x6=72) kan numunesi 2 ml olarak koksigeal venadan alındı. Alınan kan örneklerinin serumları ayrıldı.

2.4. Somatik Hücre Sayılarının (SHS) Belirlenmesi:

Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Labaratuvarında somatik hücre sayımı gerçekleştirildi.

Somatik Hücre Sayısı boyama ve tespit solüsyonu hazırlanması,

Metilen mavisi,	0,6 g
Etil alkol %95'lik,	54 ml
Glasiyal asetik asit,	6 ml
Asetonitril,	40 ml

Etil alkol ve asetonitril bir şişe içerisinde karıştırılıp 60-70°C ayarlı su banyosunda bir süre tutulup, metilen mavisi ilave edilip iyice karıştırıldıktan sonra, bir gece 4°C'de bekletildi. Daha sonra, glasiyal asetik asit ilave edildikten sonra filtre edilerek kullanıldı. Laboratuvara getirilen süt örnekleri 50-60°C'ye ayarlanmış çalkalayıcı su banyosunda 30 dk tutularak homojenize edildikten sonra, temiz bir lam üzerindeki 100 mm^2'lik bir alana 0.05 ml süt örneği yayıldı. Hazırlanan preparatlar havada kurutulduktan sonra, tamamen üzerilerini örtecek

şekilde SHS boya solusyonu ile kaplanarak 10 dakika süreyle boyandı. Boyanmış preparatlar yıkandı, kurutuldu ve sedir yağı damlatarak mikroskopta immersiyon objektifle incelendi. Fazla hücreli preparatlarda 100, az hücreli preparatlarda 20 mikroskop sahasında belirgin çekirdeğe sahip hücreler sayılarak bir mikroskop sahasındaki ortalama hücre sayısı belirlendi ve çalışma katsayısı 497 611 ile çarpılarak 1 ml sütteki SHS belirlendi (Anonim 1981).

2.5. Süt İçerik Analizi:

MILKANA® Express Plus cihazı kullanarak (® Mayasan Biotech firması tarafından bir araya getirilmiş) kızıl ötesi analiz yöntemi ile yağ, kuru madde gerçek protein, laktoz, yoğunluk, donma noktasıve iletkenlik analizleri yapıldı. Süt proteini, yağ, kuru madde ve laktoz, Fourier dönüşümü kızılötesi spektrum analizine dayanan Milko Scan FT cihazı (Seri No. 2008 Parça No:701028 no ile Türkiye için üretililen) ile ölçülmüştür. Milko Scan™ FT orta kızıl ötesi bölgede, 1000–5000 cm^{-1}'e karşılık gelen 3–10 μm'lik bir spektral aralıkta çalışır. Fourier dönüşümü kızıl ötesi spektrometre tüm kızıl ötesi spektrumu tarar, veri toplar ve yeni parametreleri bu prensiple ölçmektedir. Ölçümlerde FAT: yağ, SNF: yağsız kuru madde, DEN: Dansite; yoğunluk, PROT: Protein, FP: Donma noktasıve Z:İletkenlik analizinin kısaltmalarını ifade etmektedir.

Süt Analiz (Milkana Ekspres Plus) protokolü;

1. Uygun metotlarla alınan süt numuneleri cihaza özel süt numune kaplarına yerleştirildi.
2. Cihazın güç düğmesi açılarak ekranda “Warm up” yazısı kaybolana kadar beklendi.
3. Ekranda “Milkana Ekspres Plus” yazısı çıktıktan sonra“Ok”tuşuna basıldı
4. “Mode” tuşu yardımıyla inek sütü ölçümü için seçenek olan “cow milk” seçeneği işaretlendi
5. Sonra gelen ekranda Numune Kod numarası 1-100 arası girilerek qualty ekranı çıktıktan sonra tekrar “OK” tuşuna basılarak sonucun ekranda görülmesi beklendi (ekranda görülen değer kayda geçirildi)
6. Ekranda görünen sonuç ayrıca cihaza bağlı olan yazıcı yardımıyla yazdırılarak saklandı.

7. Tüm numunelerden sonra önce distile su daha sonra serum fizyolojikle cihaz temizlendi. Daha sonra diğer numune ölçümüne geçildi.

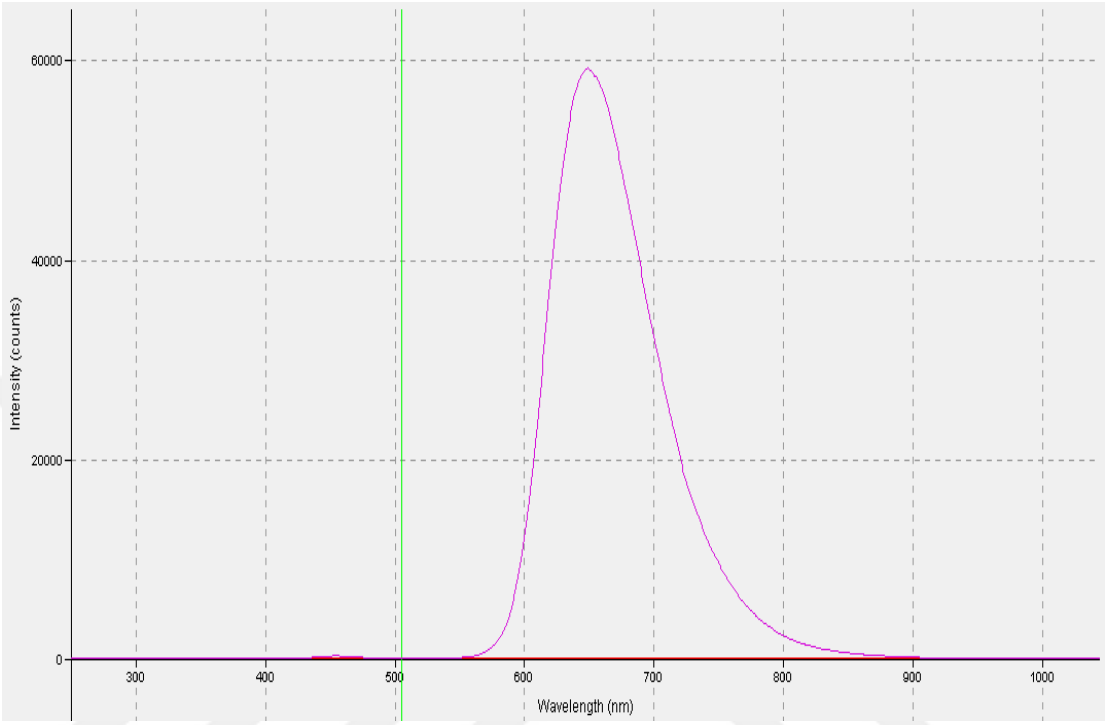
8. Cihazın günlük temizliği distile su ve alkali solüsyon ile haftalık temizliği ise asit solüsyon ve distile su ile kullanım kılavuzda belirtildiği gibi beşer tekrar yapılarak analizler tamamlandı.

2.6. Işık Uygulaması:

Işık düzeneklerinin hazırlanmasında led ampüller ve taşıyıcı armatür (180^0 dönebilen 50 Watt SMD Led Projektör armatür slim kasa)piyasadan satın alma yolu ile gerçekleştirildi. Soğutmalı 50 watt kırmızı ışık veren SMD Powerled (6040 – F2525 A2) ampül kasalarına monte edildi. Işık kaynağının dalga boyuölçümleri için Selçuk Üniversitesi İLTEK Laboratuvarında Elektron mikroskobu yardımı ile hizmet alımı şeklinde Spektrofotometre (LED) Ocean Optics/Qe 65000 Fiber uç ile led lamba arasındaki mesafe 10-15 cm olacak şekilde ölçümü gerçekleştirildi. Işığın dalga boyu yaklaşık 652 nm olarak hesaplandığı bilgisi raporlanarak (Şekil 2.1) kayıt altına alındı.

Ölçümü gerçekleştirilen ışık düzenekleri çiftlik bünyesinde görevli elektrik teknisyenleri aracılığı ile ışık yalıtımı (pencereleri aliminyum folyo ile kapatılan) ahır içerisinde uygun yerlere monte ettirildi. Montaj sonrasında ve deneme dönemlerinde ampül, hayvan göz seviyesi ve yemlik seviyesinde ışık şiddetlerinin ölçümü gerçekleştirilidi. Denemenin kontrol (karanlık) döneminde seçilen hayvanlara işletmede uygulanmakta olan aydınlatma programı uygulanmaya devam edilirken 5 günlük adaptasyon süresinden sonra 5, 10 ve 15. gün olmak üzere karanlık dönem kan ve süt numuneleri toplandı. Deneyin asıl uygulaması olan kırmızı ışık uygulamasına ise bu dönemi takiben ışık düzeneği çalıştırılarak tekrar 5 günlük adaptasyon dönemi sonrası denemenin 2. aşamasına geçildi. Bu dönem sırasında hayvanlar 18.00 dan sonra 12 saat süresince (18.00-06.00 arası) kırmızı ışığa maruz bırakılır iken gündüzleri gün ışığına maruz bırakıldılar. Kontrol döneminde olduğu gibi aynı hayvanlardan 5, 10 ve 15. gün sabah ve akşam olmak üzere 2 kez süt ve kan numuneleri belirtilen protokole uyularak toplandı. Toplanan numuneler analiz ve saklamak amaçlı laboratuara ulaştırıldı. Karanlık ve kırmızı ışık aydınlatma evrelerinin numunelerinin toplandığı dönemlerde ışık ölçümleri yapılarak kaydedildi. Hayvanların bulunduğu ortam deneme boyunca 12 saat aydınlık/12 saat

karanlık (06.00–18.00 arası aydınlık) olarak tutuldular. Denemede aydınlık led kontrollü kırmızı yayan LED ampüler ile sağlandı. Hayvanların göz hizasında ışık ILT 1700 radiometre cihazı yardımı ile ölçülerek ışık şiddetin yoğunluğu 4,67 x 10.76 fc (=~50,267 lüks) olarak hesaplandı.



Şekil 2.1 Denemede kullanılan kırmızı led ampül ışığının dalga boyu.

2.7. Isı ve Nem Ölçümleri:

İşletmede gerçekleştirilmiş olan kulak küpe numaraları kullanılarak kayıtlarda hangi hayvanlardan numune alındığı belirlendi. Işık miktarı ve spektral kompozisyonlar, kalibre edilmiş bir el fiberoptik spektrometre (IL 1700 Research Radiometer) kullanılarak ölçüldü. İşletmede var olan ölçülebilen parametreler ısı, nem, (Trotec Isı nemölçer BC 06) hava akış hızı ölçümleri (Hava Hızı Ölçme Cihazı Trotec BA 06) gerçekleştirildi. Ayrıca işletmenin bulunduğu konuma ait yükseklik, nem ve gün uzunluğu ve ay pozisyonu gibi değerler Meteoroloji 8 Bölge Müdürlüğünden alındı. Araştırmanın gerçekleştiği dönemTemmuz ayı için hava sıcaklığı ortalaması 25,51 °C (max 36,16-min 11,5 °C) değerleri ile aylık yağış miktarı 0,6 mm olarak ölçüldü. Ağustos ayı başı için hava sıcaklığı ortalaması 23,79 °C (max 36,43-min 8,31°C)aylık yağış miktarı 12,8 mm olarak kaydedildi. Hayvanlar barınak içi sıcaklık ve nem kontrollü otamatik fan ile gerçekleştirilen ahır (22±2°C ve nem kontrollü % 55±5) ortamında barındırıldılar.

2.8. Süt Melatonin Düzeylerinin Analizi:

Toplanan süt örnekleri soğuk zincirde biyokimya laboratuvarına getirildi ve uygulamalara kadar -20 ^{o}C'de saklandı. Süt MLT düzeylerinin analizi Milagres ve ark (2014) ile Kollmann ve ark (2008)'in inek sütü için modifiye ettiği insan direkt tükrük MLTElisa kiti (RE54041, IBL International, Almanya) ile gerçekleştirildi. Sütler kit prosedürüne göre analiz edildi (Milagres ve ark 2014). Örnekleme öncesinde süt örnekleri 4 kat sulandırıldı.

Prensip: MLT antijeni ile kaplanmış mikropleyt kuyucuklarının kullanıldığı yöntemde, kuyucuklara standart çözeltileri ve süt örnekleri eklendikten sonra tracer olarak biotinle işaretlenmiş MLT antikoru ve HRP (Horse radish peroxydase) birlikte verilerek inkube edilir. İnkubasyon sonrası plaklar yıkanarak tracer'a bağlanmamış HRP'ler uzaklaştırılır, yıkanan plaklara subsrat eklenerek inkube edilir ve inkubasyon sona erince stop solusyonu ile enzim reaksiyonu durdurulur, 10 dakika içinde 450 nm'de absorbanslar okundu.

Prosedür:

1- Mikropleyt kuyucuklarına örnek (süt) ve standartlardan 100'er µl eklendi.

2- Her kuyucuğa 50 µl antiserum solüsyonu eklendi. Kuyucukların üzeri jelatin bant ile tamamen kapatıldı ve mikropleyt alüminyum folyoya sarılarak shakerda karıştırıldı.

3- Mikropleyt buzdolabında (+4 ^{o}C ile +8^{o}C'de) 16 saat inkübasyona bırakıldı.

4- Kuyucuklar, içeriği boşaltıldıktan sonra, Wash Buffer ile 4 kez yıkandı ve pleyt kurutma kâğıdına ters çevrilerek, içerisi sıvıdan tamamen boşaltıldı.

5- Kuyucuklara 100 µl Biyotin solüsyonu eklendi ve kuyucukların üzeri jelatin bant ile tamamen kapatıldı ve mikropleyt alüminyum folyoya sarılarak shakerda karıştırıldı.

6- Mikropleyt oda ısısında, 2 saat süreyle shaker üzerinde inkübe edildi.

7- Kuyucuklar, içeriği boşaltıldıktan sonra, Wash Buffer ile 4 kez yıkandı ve pleyt kurutma kâğıdına ters çevrilerek, içerisi sıvıdan tamamen boşaltıldı.

8- Kuyucuklara 100 µl Enzim Konjugatı eklendi ve kuyucukların üzeri jelatin bant ile tamamen kapatıldı ve mikropleyt alüminyum folyoya sarılarak shakerda karıştırıldı.

9- Mikropleyt oda ısısında, 1 saat süreyle shaker üzerinde inkübe edildi.

10- Kuyucuklar, içeriği boşaltıldıktan sonra, Wash Buffer ile 4 kez yıkandı ve pleyt kurutma kâğıdına ters çevrilerek, içerisi sıvıdan tamamen boşaltıldı.

11- Kuyucuklara 100 µl TMB substrat solusyonu eklendi ve kuyucukların üzeri jelatin bant ile tamamen kapatıldı ve mikropleyt alüminyum folyoya sarılarak shakerda karıştırıldı.

12- Mikropleyt oda ısısında, 15 dk süreyle shaker üzerinde inkübe edildi.

13- Kuyucuklara 100 µl TMB stop solusyonu eklendi ve dikkatlice karıştırıldı. Renk maviden sarıya dönüştü.

14- İlk 5 dk içerisinde kuyucuklardaki optik dansite, ELISA reader cihazında 450 nm'de belirlendi.

Numune sonuçları standart eğri üzerinden hesaplandı. Başlangıçta numuneler 4 kat sulandırıldığı için sonuçlar 4 ile çarpıldı ve düzeyler pg/ml olarak verildi.

2.9. İstatistik Analizler:

Verilere normal dağılım gösterip göstermediklerini belirlemek amacı ile Kolmogorov-Smirnova testi uygulandı. Veriler normal dağılıma uymadığından nonparametrik varyans analizi için Kruskal Wallis testinden sonra gruplardaki farklılıkların tespitinde 2'li karşılaştırmalarda Mann Whitney U, çoklu karşılaştırmalarda ise Dunnet testinden faydalanıldı. Her grupta kan ve süt MLT konsantrasyonu (gece ve gündüz süt ortalaması), SHS ve süt besin madde içerik düzeyleri (kuru madde, yağ, protein, yoğunluk, iletkenlik, laktoz) arasındaki ilişkiyi ve her grupta sağım zamanı ile kan süt arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için Spearman korelasyon katsayısı kullanıldı. İstatistik hesaplamalar Selçuk Üniversitesi kurumsal kullanım lisanslı IBM SPSS 25 paket programı ile gerçekleştirildi.

3. BULGULAR

Araştırmada elde edilen verilere ait serum ve süt MLT düzeyleri ile SHS ilgili istatistiki değerlendirme ve sonuçları Tablo 3.1'de, süt içerik parametrelerine ait veriler Tablo 3.2'de verildi.

Tablo 3. 1 Serum ve süt MLT düzeyleri (pg/ml) ile süt SHS (ortalama ±standart hata)

		SABAH			**AKŞAM**		
n=6		**KONTROL**	**DENEME**	*P*	**KONTROL**	**DENEME**	*P*
Serum MLT	5. gün	8,64±1,4	10,93±2,06	*0,699*	8,59±1,8	14,83±3,11	*0,310*
Serum MLT	10. gün	7,02±0,97	15,37±2,6	*0,090*	7,53±2,14	14,5±3,57	*0,310*
Serum MLT	15. gün	8,71±2,3	11,25±1,71	*0,310*	8,35±0,94	12,95±4,09	*0,589*
	p	*0,697*	*0,322*		*0,947*	*0,891*	
Süt MLT	5. gün	5,01±0,92	2,97±0,64	*0,180*	6,91±1,73	4,42±0,61	*0,093*
Süt MLT	10. gün	5,23±0,35	5,7±1,06	*0,240*	6,80±1,27	2,51±0,56	*0,004*
Süt MLT	15. gün	3,93±0,81	3,33±0,73	*0,394*	3,67±0,97	2,48±0,79	*0,394*
	p	*0,359*	*0,139*		0,113	0,118	
*SHS**	5. gün	37,32±5,6	91,23±13,2	*0,180*	111,96±38,3	140,99±10	*0,180*
*SHS**	10. gün	62,2±16,1	99,52±11,5	*0,485*	62,2±5,8	248,81±40,7	*0,589*
*SHS**	15. gün	91,23±15,5	161,72±28,5	*0,818*	140,99±38,4	157,58±31,3	*0,818*
	p	*0,147*	*0,845*		*0,452*	*0,584*	

(*adet x 1000).

Tablo 3.2 Tüm deneme gruplarında süt parametreleri (ortalama ±standart hata).

		SABAH			AKŞAM		
		KONTROL	**DENEME**	*P*	**KONTROL**	**DENEME**	*P*
% DEN	5. gün	27,22±1,92	29,58±0,38	*0,520*	24,22±2,85	27,38±1,37	*0,589*
% DEN	10. gün	28,63±1,32	30,17±0,55	*0,589*	23,78±2,98	24,28±1,74	*0,937*
% DEN	15. gün	25,66±4,51	30,32±0,16	*0,818*	27,85±1,10	28,62±0,90	*0,589*
	p	*0,645*	*0,345*		*0,554*	*0,075*	
% FAT	5. gün	3,30±1,62	1,38±0,32	*0,630*	2,28±0,50	3,13±1,20	*0,937*
% FAT	10. gün	1,55±0,53	0,93±0,23	*0,485*	5,42±1,48	5,27±1,43	*0,937*
% FAT	15. gün	1,10±0,51	0,55±0,18	*0,937*	3,01±1,11	1,86±0,69	*0,310*
	p	*0,431*	*0,076*		*0,359*	*0,108*	
% FP	5. gün	53,53±1,02	54,53±0,35	*0,699*	46,97±4,39	53,58±0,53	*0,310*
% FP	10. gün	53,05±1,53	54,82±1,01	*0,485*	52,00±2,45	51,95±0,65	*0,485*
% FP	15. gün	54,62±0,70	54,38±0,36	*0,818*	54,02±0,79	53,67±0,61	*0,818*
	p	*0,875*	*0,470*		*0,402*	*0,144*	
% LAC	5. gün	4,35±0,11	4,47±0,03	*0,699*	3,81±0,37	4,36±0,06	*0,485*
% LAC	10. gün	4,36±0,13	4,50±0,07	*0,485*	4,10±0,30	4,16±0,09	*0,485*
% LAC	15. gün	4,52±0,07	4,48±0,02	*0,699*	4,41±0,06	4,39±0,06	*0,937*
	p	*0,778*	*0,443*		*0,548*	*0,125*	
% PROT	5. gün	2,96±0,05	3,01±0,02	*0,748*	2,60±0,24	2,97±0,02	*0,394*
% PROT	10. gün	2,94±0,08	3,02±0,05	*0,485*	2,85±0,18	2,88±0,03	*0,240*
% PROT	15. gün	3,03±0,05	3,00±0,02	*0,818*	3,0±0,04	2,96±0,03	*0,589*
	p	*0,719*	*0,450*		*0,321*	*0,115*	
% SNF	5. gün	7,90±0,16	8,07±0,05	*0,631*	6,91±0,66	7,91±0,10	*0,394*
% SNF	10. gün	7,87±0,22	8,11±0,13	*0,485*	7,50±0,52	7,6±0,13	*0,485*
% SNF	15. gün	8,17±0,14	8,06±0,05	*0,699*	7,99±0,11	7,93±0,09	*0,589*
	p	*0,781*	*0, 475*		*0,436*	*0,119*	
Z mS/cm	5. gün	4,53±0,19	5,13±0,10	*0,015*	4,79±0,15b	5,19±0,17	*0,240*
Z mS/cm	10. gün	4,99±0,21	5,17±0,06	*0,589*	5,04±0,18a	5,18±0,10	*0,485*
Z mS/cm	15. gün	4,78±0,13	5,18±0,15	*0,093*	5,27±0,05a	5,25±0,11	*0,699*
	p	*0,082*	*0,890*		*0,030**	*0,932*	

*P<0,05 düzeyinde farklılık önemlidir. DEN: Yoğunluk 1,0260 g/cm3 – 1,0330 g/cm3 (±0,0005g/cm3) FP: Donma Noktası % (-1°C) – 0°C (±0,015°C) , SNF: Yağsız kuru madde % 6–% 12 (±% 0,2) FAT: yağ % 0,5 –% 9 (±% 0,1). Z: İletkenlik:2 mS/cm – 20 mS/cm (±% 1) (18°C).

Gerçekleştirilen denemede elde edilen bulgularla hesaplanan fenotipik korelasyonlar deneme ve kontrol gruplarında 5. gün için Tablo 3.3, 10. gün için Tablo 3.4 ve 15. gün için Tablo 3.5'de özetlendi.

Tablo 3.3 Kontrol ve deneme 5. gün sabah akşam süt MLT ve süt kalite parametreleri arasındaki korelasyonlar

	KONTROL				DENEME					
SABAH	*Serum*	*Süt*								
AKŞAM	*MLT*	*MLT*	*FAT*	*SNF*	*DEN*	*PROT*	*FP*	*LAC*	*Z*	*SHS*
Serum MLT	1	0,60	0,89*	-0,31	-0,49	-0,20	-0,31	-0,31	0,00	0,44
Serum MLT	**1**	**-0,64**	**0,89***	**-0,43**	**-0,84***	**-0,32**	**-0,43**	**-0,60**	**-0,26**	**-0,81***
Süt MLT	0,41	1	0,43	-0,83*	-0,94**	-0,78	-0,83*	-0,83*	0,35	0,09
Süt MLT	**0,03**	**1**	**-0,52**	**0,06**	**0,46**	**0,01**	**0,06**	**0,23**	**0,70**	**0,87***
FAT	0,37	-0,14	1	-0,20	-0,37	-0,14	-0,20	-0,20	-0,43	0,79
FAT	**0,94****	**0,26**	**1**	**-0,77**	**-0,99****	**-0,70**	**-0,77**	**-0,83***	**-0,26**	**-0,78**
SNF	0,03	0,12	-0,54	1	0,94**	0,99**	1,00**	1,00**	-0,32	0,09
SNF	**-0,14**	**-0,49**	**-0,43**	**1**	**0,84***	**0,99****	**1,00****	**0,94****	**0,14**	**0,32**
DEN	-0,14	0,29	-0,89*	0,83*	1	0,93**	0,94**	0,94**	-0,23	-0,09
DEN	**-0,31**	**-0,54**	**-0,60**	**0,94****	**1**	**0,78**	**0,84***	**0,90***	**0,23**	**0,72**
PROT	0,03	0,25	-0,29	0,91*	0,68	1	0,99**	0,99**	-0,22	0,04
PROT	**-0,14**	**-0,49**	**-0,43**	**1,00****	**0,94****	**1**	**0,99****	**0,90***	**0,09**	**0,28**
FP	0,06	0,09	-0,49	0,99**	0,81*	0,93**	1	1,00**	-0,32	0,09
FP	**-0,14**	**-0,49**	**-0,43**	**1,00****	**0,94****	**1,00****	**1**	**0,94****	**0,14**	**0,32**
LAC	0,03	0,12	-0,54	1,00**	0,83*	0,91*	0,99**	1	-0,32	0,09
LAC	**-0,14**	**-0,49**	**-0,43**	**1,00****	**0,94****	**1,00****	**1,00****	**1**	**0,31**	**0,41**
Z	0,03	-0,26	-0,37	0,37	0,49	0,26	0,49	0,37	1	-0,85*
Z	**-0,03**	**0,54**	**-0,09**	**0,43**	**0,37**	**0,43**	**0,43**	**0,43**	**1**	**0,35**
SHS	-0,88*	-0,30	-0,29	0,29	0,29	0,40	0,30	0,29	0,10	1
SHS	**0,51**	**-0,78**	**0,34**	**0,07**	**0,07**	**0,07**	**0,07**	**0,07**	**-0,68**	**1**

*P<0,05 düzeyinde korelasyonlar önemli, **P<0,01 düzeyinde korelasyonlar önemli anlamını taşır.

(Koyu ifade edile korelasyon katsayıları (r) **Akşam** grubuna, *italik* olanlar ise *Deneme* grubuna aittir).

Tablo 3.4 Kontrol ve deneme 10. gün sabah akşam süt MLT ve süt kalite parametreleri arasındaki korelasyonlar.

	KONTROL					DENEME				
SABAH	*Serum*	*Süt*								
AKŞAM	*MLT*	*MLT*	*FAT*	*SNF*	*DEN*	*PROT*	*FP*	*LAC*	*Z*	*SHS*
Serum MLT	1	*0,60*	*0,89**	*-0,31*	*-0,49*	*-0,20*	*-0,31*	*-0,31*	*0,00*	*0,44*
Serum MLT	**1**	***0,99*****	***-0,12***	***0,41***	***0,12***	***0,32***	***0,41***	***0,41***	***0,35***	***0,36***
Süt MLT	-0,15	1	*0,43*	*-0,83**	*-0,94***	*-0,78*	*-0,83**	*-0,83**	*0,35*	*0,09*
Süt MLT	**0,09**	**1**	***-0,14***	***0,43***	***0,14***	***0,26***	***0,43***	***0,43***	***0,31***	***0,44***
FAT	0,26	-0,09	1	*-0,20*	*-0,37*	*-0,14*	*-0,20*	*-0,20*	*-0,43*	*0,79*
FAT	**0,66**	**0,60**	**1**	***-0,94*****	***-1,00*****	***-0,77***	***-0,94*****	***-0,94*****	***-0,14***	***-0,03***
SNF	-0,18	0,56	-0,46	1	*0,94***	*0,99***	*1,00***	*1,00***	*-0,32*	*0,09*
SNF	**-0,54**	**-0,03**	**-0,77**	**1**	***0,94*****	***0,83****	***1,00*****	***1,00*****	***0,31***	***0,03***
DEN	-0,22	0,50	-0,72	0,94**	1	*0,93***	*0,94***	*0,94***	*-0,23*	*-0,09*
DEN	**-0,37**	**-0,26**	**-0,83***	**0,94****	**1**	***0,77***	***0,94*****	***0,94*****	***0,14***	***0,03***
PROT	-0,17	0,57	-0,40	0,99**	0,92*	1	*0,99***	*0,99***	*-0,22*	*0,04*
PROT	**-0,54**	**-0,03**	**-0,77**	**1,00****	**0,94****	**1**	***0,83****	***0,83****	***0,26***	***-0,37***
FP	-0,17	0,47	-0,39	0,99**	0,90*	0,99**	1	*1,00***	*-0,32*	*0,09*
FP	**-0,54**	**-0,03**	**-0,77**	**1,00****	**0,94****	**1,00****	**1**	***1,00*****	***0,31***	***0,03***
LAC	-0,18	0,56	-0,50	0,99**	0,96**	0,99**	0,98**	1	*-0,32*	*0,09*
LAC	**-0,54**	**-0,03**	**-0,77**	**1,00****	**0,94****	**1,00****	**1,00****	**1**	***0,31***	***0,03***
Z	-0,71	0,13	0,10	-0,13	-0,08	-0,14	-0,15	-0,13	1	*-0,85**
Z	**-0,43**	**-0,14**	**-0,77**	**0,89***	**0,94****	**0,89***	**0,89***	**0,89***	**1**	***-0,30***
SHS	-0,11	-0,40	-0,36	-0,59	-0,28	-0,64	-0,64	-0,55	0,33	1
SHS	**0,39**	**0,33**	**0,82***	**-0,88***	**-0,88***	**-0,88***	**-0,88***	**-0,88***	**-0,70**	**1**

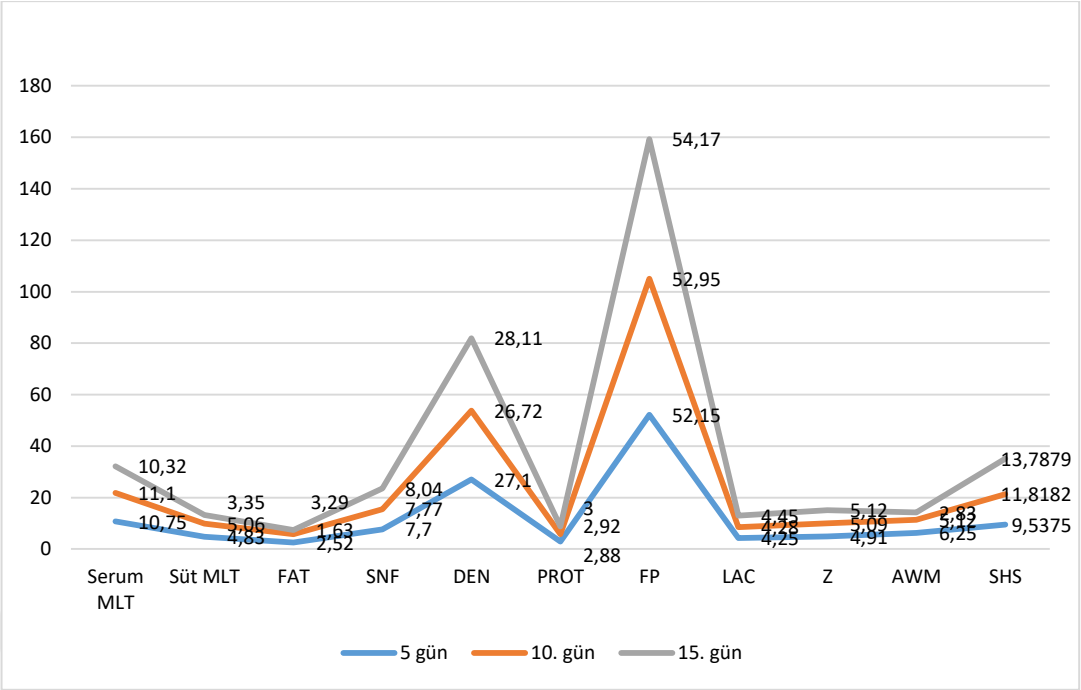
*P<0,05 düzeyinde korelasyonlar önemli, **P<0,01 düzeyinde korelasyonlar önemli anlamını taşır.

Tablo 3.5 Kontrol ve deneme 15. gün sabah akşam süt MLT ve süt kalite parametreleri arasındaki korelasyonlar.

	KONTROL					DENEME				
SABAH	*Serum*	*Süt*								
AKŞAM	*MLT*	*MLT*	*FAT*	*SNF*	*DEN*	*PROT*	*FP*	*LAC*	*Z*	*SHS*
Serum MLT	1	*-0,20*	*-0,49*	*-0,71*	*-0,32*	*-0,71*	*-0,71*	*-0,67*	*0,14*	*0,00*
Serum MLT	**1**	***0,06***	***0,26***	***-0,31***	***-0,37***	***-0,14***	***-0,14***	***-0,37***	***0,03***	***0,12***
Süt MLT	0,26	1	0,20	*0,20*	*0,20*	*0,20*	*0,20*	*0,09*	*-0,54*	*0,41*
Süt MLT	**0,93****	**1**	**-0,41**	***0,64***	***0,52***	***0,84****	***0,84****	***0,52***	***0,38***	***-0,72***
FAT	-0,66	-0,14	1	*0,61*	*0,00*	*0,61*	*0,61*	*0,59*	*-0,49*	*0,01*
FAT	**-0,70**	**-0,83***	**1**	***-0,60***	***-0,77***	***-0,49***	***-0,49***	***-0,77***	***-0,89****	***0,62***
SNF	-0,14	0,37	0,14	1	*0,75*	*1,00***	*1,00***	*0,99***	*-0,09*	*-0,55*
SNF	**0,23**	**0,43**	**-0,03**	**1**	***0,94*****	***0,94*****	***0,94*****	***0,94*****	***0,43***	***-0,93*****
DEN	-0,64	-0,06	0,06	0,58	1	*0,75*	*0,75*	*0,76*	*0,29*	*-0,72*
DEN	**0,52**	**0,77**	**-0,60**	**0,77**	**1**	***0,83****	***0,83****	***1,00*****	***0,66***	***-0,93*****
PROT	-0,12	0,46	0,12	0,99**	0,59	1	*1,00***	*0,99***	*-0,09*	*-0,55*
PROT	**0,29**	**0,37**	**0,14**	**0,94****	**0,60**	**1**	***1,00*****	***0,83****	***0,37***	***-0,93*****
FP	-0,26	0,49	0,09	0,94**	0,64	0,93**	1	*0,99***	*-0,09*	*-0,55*
FP	**0,12**	**0,37**	**-0,09**	**0,94****	**0,83***	**0,83***	**1**	***0,83****	***0,37***	***-0,93*****
LAC	-0,14	0,37	0,14	1,00**	0,58	0,97**	0,94**	1	*0,06*	*-0,60*
LAC	**0,12**	**0,37**	**-0,09**	**0,94****	**0,83***	**0,83***	**1,00****	**1**	***0,66***	***-0,93*****
Z	-0,49	0,26	0,31	-0,20	-0,06	-0,23	0,09	-0,20	1	*-0,32*
Z	**0,58**	**0,31**	**0,09**	**0,09**	**-0,14**	**0,37**	**-0,14**	**-0,14**	**1**	***-0,62***
SHS	-0,06	-0,46	-0,55	-0,55	0,24	-0,53	-0,46	-0,55	-0,12	1
SHS	**-0,03**	**-0,27**	**-0,03**	**-0,94****	**-0,70**	**-0,82***	**-0,88***	**-0,88***	**0,15**	**1**

*P<0,05 düzeyinde korelasyonlar önemli, **P<0,01 düzeyinde korelasyonlar önemli anlamını taşır.

Denemenin 5, 10 ve 15. gün verilerinden elde edilen görseller süt parametreleri için Grafik 3.2 ile serum MLT ve süt MLT değişimleri sabah ve akşam gruplar için ayrı ayrı olarak Grafik 3.3 - 3.6 da gösterildi.



Grafik 3.2 Serum ve süt MLT ile süt parametrelerinin 5. 10. ve 15. gün değişimleri (pg/ml,%)

Tablo 3.6 Serum MLT düzeyleri (pg/ml, ortalama±standart hata).

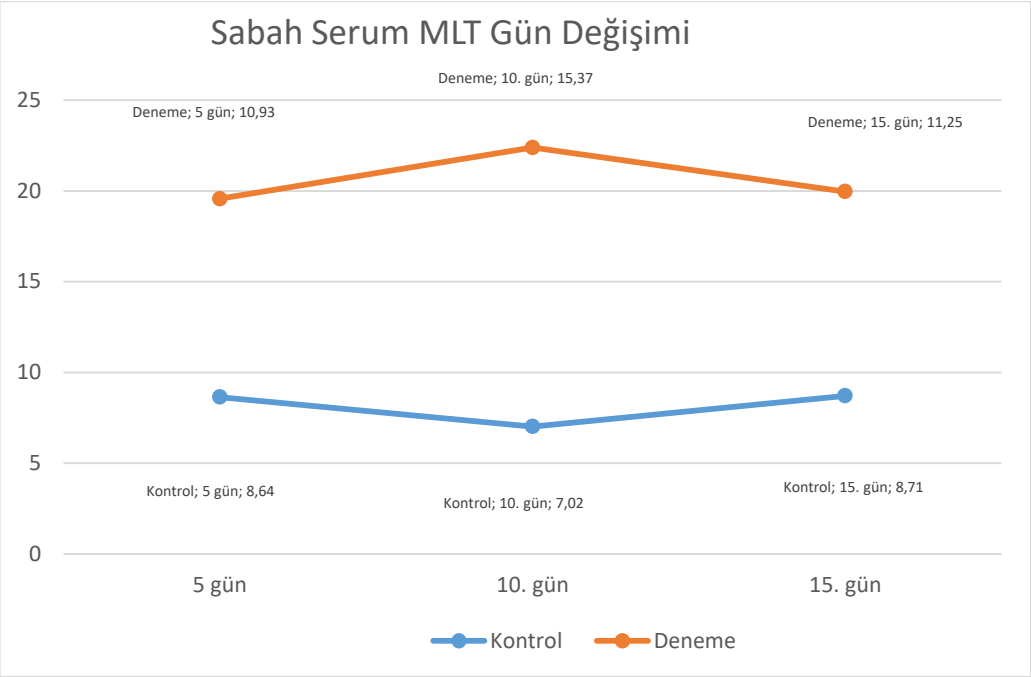
n=6	Sabah			Akşam		
Gruplar	Kontrol	Deneme	P	Kontrol	Deneme	P
5. gün	8.64±1.4	10.93±2.1	0,215	8.59±1.8	14.83±3.1	0,089
10. gün	7.02±0.97	15.37±2.6	0,030*	7.53±2.14	14.50±3.6	0,307
15. gün	8.71±2.3	11.25±1.7	0,798	8.35±0.94	12.95±4.1	0,124
P	*0.721*	*0.297*		*0.898*	*0.926*	

*: P< 0.05 düzeyinde önemlilik vardır.

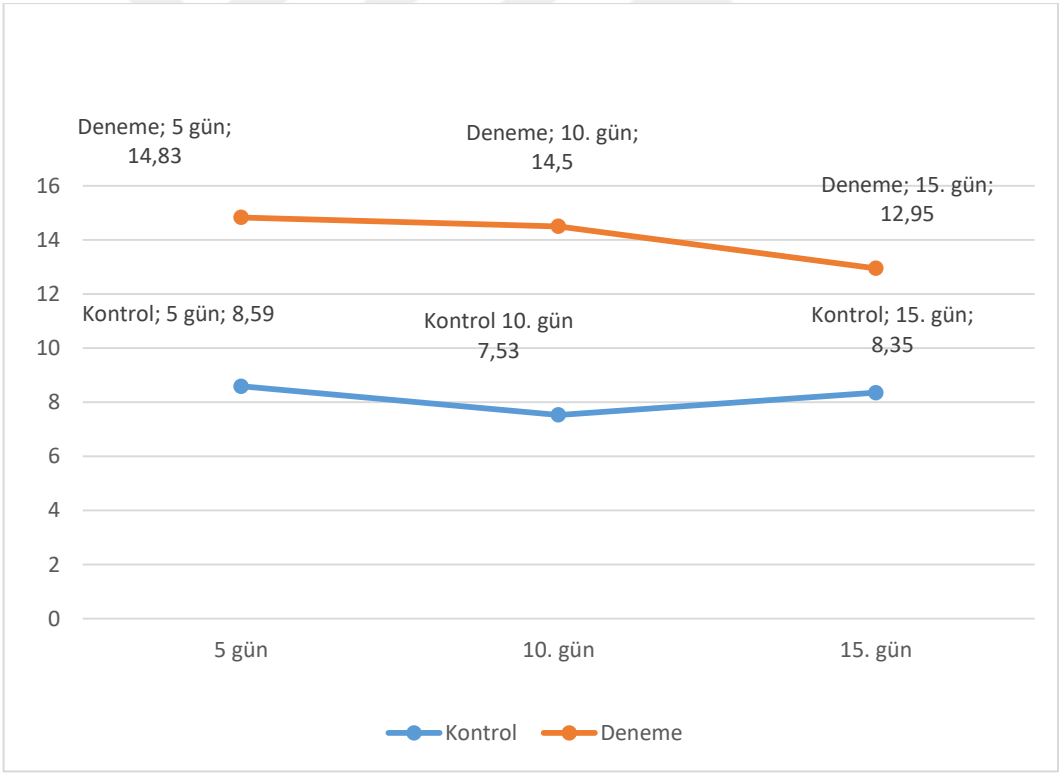
Tablo 3.7 Süt MLT düzeyleri (pg/ml).

	Sabah			Akşam		
Gruplar	Kontrol	Deneme	P	Kontrol	Deneme	P
5. gün	5.01±0.92	2.97±0.6	0.149	6.91±1.73	4.42±0.6	0.092
10. gün	5.23±0.35	5.70±1.1	0,198	6.80±1.27	2.51±0.6	0,031
15. gün	3.93±0.81	3.33±0.7	0,337	3.67±0.97	2.48±0.8	0,336
P	*0.433*	*0.069*		*0.195*	*0.092*	

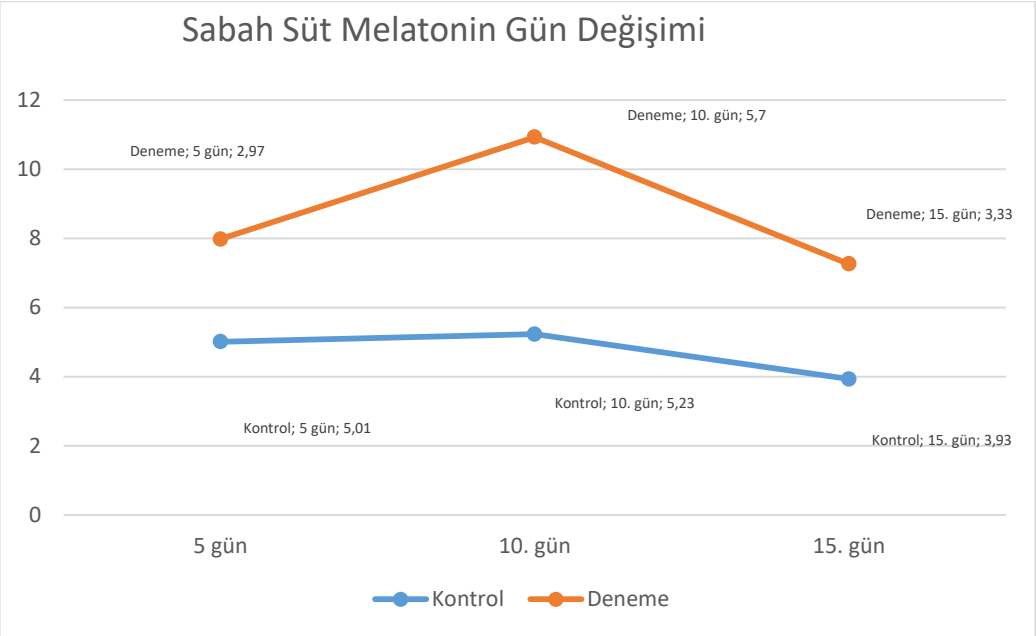
*: P< 0.05 düzeyinde önemlilik vardır.



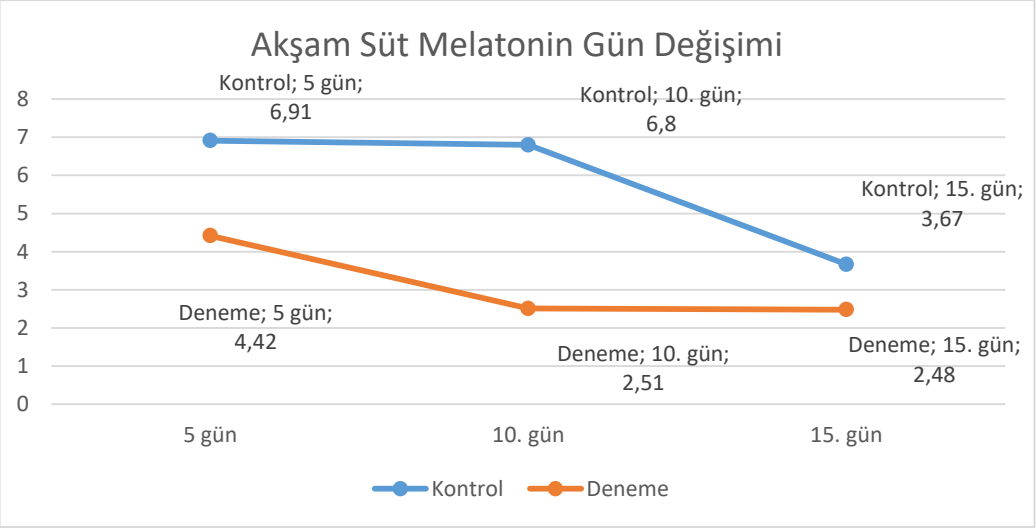
Grafik 3.3 Sabah serum MLT gün değişimi (pg/ml)



Grafik 3.4 Akşam serum MLT gün değişimi (pg/ml)



Grafik 3.5 Sabah süt MLT gün değişimi (pg/ml)



Grafik 3.6 Akşam süt MLT gün değişimi (pg/ml).

Tablo 3.8 Kontrol ve deneme gruplarında SHS (x 1000) düzeyleri.

n=6	Sabah			Akşam		
Gruplar	Kontrol	Deneme	*p*	Kontrol	Deneme	*p*
5. gün	3,73±0,56	9,12,2±3,78	*0,096*	11,19±8,22	14,10±3,50	*0,262*
10. gün	6,22±2,38	9,95,7±3,52	*0,326*	6,22±1,40	24,88±14,74	*0,001***
15. gün	9,12±2,84	16,17±9,28	*0,135*	14,10±10,15	15,50±11,79	*0,796*
p	*0,245*	*0,681*		*0,763*	*0,763*	

**: P< 0.001 düzeyinde önemlilik vardır,(*x 1000 ml)

Araştırmanın 5. günde serum MLT ile FAT arasında akşam grubunda pozitif yüksek (r=+0,89, p<0,05), serum MLT ile DEN (r=-0,84, p<0,05) ve SHS ile (r=-0,81, p<0,05) negatif yüksek bir ilişki olduğu tespit edildi. Süt MLT ile süt parametreleri arasında kontrol grubunda önemli bir ilişki tespit edilmedi (P>0,05).Süt MLT ile deneme sabah grubunda SNF (r=-0,83, p<0,05), LAC(r=-0,83, p<0,05) önemli, DEN (r=-0,94, p<0,01) çok önemli negatif ilişkiler görüldü. Deneme akşam grubunda serum MLT ile FAT arasında çok önemli pozitif korelasyon (r=+0,94) ilişki bulundu. Deneme akşam grubunda süt MLT ile SHS arasında yüksek pozitif (r=+0,87, p<0,05) bir korelasyonolduğu görüldü. SHS bakımındankorelasyonlar incelendiğinde ise kontrol akşam grubunda önemli bir ilişki tespit edilemezken sabah grubunda daha önce de belirtildiği gibi serum MLT ile yüksek negatif (r=-0,88, p<0,05) bir ilişki söz konusudur. Deneme gruplarında ise sabah grubunda sadece iletkenlik (Z) ile yüksek negatif (r=-0,85, p<0,05) bir korelasyonolduğu belirlendi (Tablo 3.3).

Araştırmanın 10. gününde kontrol grubunun akşamında serum MLT ve süt MLT arasında kayda değer yüksek birkorelasyon tespit edildi (r=0,99, P<0,05). Süt kalite özellikleri bakımından deneme 10.günde sabahserum MLT ile FAT arasında sabah ve akşam gruplarında pozitif yüksek (r=0,89, p<0,05) korelasyon belirlendi. Diğer özellikler bakımından serum MLT ile kayda değer bir ilişki belirlenemedi. Konrtol sabah grubunda süt MLT ile SNF, DEN, FP, LAC arasında önemli korelasyonlar olduğu görüldü (p<0,05). Konrtol akşam Süt MLT ile tüm özellikler bakımından önemli bir korelasyon olmadığı belirlendi (p>0,05). Kontrol akşam SHS ile süt bileşenleri arasında olan FATile pozitif (r=0,82), SNF, DEN, PROT, FP ve LAC arasında negatif(r=-0,88)ilişkiler olduğu tespit edildi. Deneme sabah grubunda SHS ile sadece Zarasında negatif önemli korelasyon (r=-0,85) olduğu hesaplandı. Araştırmanın 10. gün kontrol SNF ve DEN parametreleri ile sabah ve akşam gruplarında benzer olmak koşuluyla PROT, FP, LAC, Z çok yüksek pozitif korelasyonlar görüldü. Yine aynı gruplarda PROT ile FP, LAC ve Z arasında çok yüksek pozitif ilişkilergözlemlendi (Tablo 3.4).

Araştırmanın 15. gününde deneme akşam grubunda serum MLT ile süt MLT arasında çok yüksek pozitif bir ilişki tespit edildi (r=+0,93 p<0,01). Deneme akşam grubunda süt MLT ile FAT arasında önemli negatif korelasyon olduğu görüldü (r=-0,83, p<0,05). Kontrol grubunda 15. günde ise SHS ile SNF çok önemli ve SHS ile

PROT, FP ve LAC arasında önemli negatif ($p<0,05$) ilişkiler olduğu hesaplandı. Kırmızı ışık deneme gruplarında SHS ile SNF, DEN, PROT, LAC, FP arasında çok yüksek negatif ($r=-0,93$ $p<0,01$) ilişkileri olduğu ortaya çıkmıştır (Tablo 3.5).

Tüm gruplar bakımından tek farklılık serum MLT seviyesinde 10. Günde sabah ortaya çıktığı ve deneme grubunun kontrol grubundan daha yüksek olduğu ölçülmüştür ($P=0,030$) (Tablo 3.6). Süt MLT bakımından denememnin 10 gününde akşam sütlerinde kontrol (6,80±1.27) ve deneme (2,51±0.6) değerleri arasında önemli farklılıklar gözlemlendi ($P=0,031$) (Tablo 3.7). Somatik hücre sayısı (*x 1000 ml) bakımından tüm gruplar değerlendirildiğinde süt MLT de olduğu gibi 10. günde akşam grubunda kontrol (6,22±1,41) ve deneme (24,88±14,74) gruplarındaçok önemli farklılık tespit edildi ($P=0,001$) (Tablo 3.8).

4. TARTIŞMA

Günümüzde besi çiftliklerinde farklı ışık uygulamalarının, hayvanların verimliliği açısından faydalı olabileceği düşünülmektedir. Aydınlık ve karanlık sürelerinin ayarlanmasıyla hem enerji tasarrufu hem de daha fazla verim elde etme gibi avantajlar sağlanmaya çalışılmaktadır. Tüm memelilerin gözleri, ışığa duyarlı ve karanlıkta görmeyi sağlayan rodları ve gün ışığında şekil ve renkleri görmeyi sağlayan konları içerir. İneklerin gözleri büyüktür ve yüksek miktarda rod içerir, bu da düşük ışık yoğunluklarında görmelerini kolaylaştırabilir (Phillips ve ark 2000). Günümüzde sığırların karanlıkta ne kadar iyi gördüğünü tam olarak bilinmemekte ve sığırların renk ayrımı hakkında tam bir bilgi bulunmamaktadır. Tüm primatlar trikromatik olup üç çeşit koniye sahipken, sığırgözü sadece iki çeşit koniye sahiptir ve dikromatiktir. Bu sebeple sığırların yeşil ile kırmızıyı ayıramadığı düşünülmektedir (Sjaastad ve ark 2003). Besiciler, geceleri sığırlar için 'görünmez ışık' olarak bilinen kırmızı ışığı gece aydınlatması için kullanmaktadır. Bu da kırmızı ışığın gece aydınlatmasında faydalı olduğunu düşündürmektedir. Böylelikle çiftçiler geceleri hayvanlarını kontrol ederken hayvanları rahatsız etmeyeceklerini düşünmektedir (Olsson 2020). Araştırmamızda da kontrol ve ışık deneme gruplarında süt ve serum MLT üzeyleri ve SHS'da çok önemli değişikler gözlemlenmemesi kırmızı ışığın gece aydınlatmasında faydalı olduğu ifadesiyle uyum göstermektedir.

Bir indol bileşiği olan ve triptofan aminoasidinden sentezlenen MLT hormonunun sentezi ve salınmasını etkileyen en önemli faktör ışıktır. Melatoninin pineal bez hücreleri tarafından salgılanması pinealosit hücrelerinin ışığa olan duyarlılığına bağlıdır. Bu duyarlılık sonucu, ışıkla ortaya çıkan engellenme, karanlıkta ortadan kalkar ve melanositlerin MLT salgılaması artar. Ortamın aydınlık veya karanlık olması, diğer bir ifade ile gece ve gündüz durumu MLT sentez ve salınmasındaki temel etkendir (Özgüner ve ark 1995). Özellikle gece saat 23.00–05.00 sıralarında MLT salgılanması en yüksek seviyeye ulaşır. Hücre içinde ve kandaki MLT düzeyi gündüze nazaran 3-10 kat artar. Melatoninin insanlarda kan konsantrasyonu gündüz saatlerinde yaklaşık 0-20 pg/dl düzeylerinde iken, gece saatlerinde ise 50-200 pg/dl düzeylerine yükselir (Claustrat ve ark 2005). Ayrıca,

MLT biyosentezi ışığın dalga boyuna duyarlıdır. Sentez kısa ışık dalga boyları tarafından bastırılır (Cajochen ve ark 2005, Asher ve ark 2015). Genel olarak, ışık şiddeti MLT'in baskılanma düzeyinin ölçülmesinde önemli bir parametredir ve ışık uyaranının parlaklığı arttıkça, baskılama gücü de artış göstermektedir (Özçelik ve ark 2013). İnsanlarda, mavi ve kırmızı ışık ile MLT salgısı üzerine yapılan bir çalışmada mavi ışık (479 nm) MLT salgısını baskılarken kırmızı ışığın (627 nm) bir etkisinin olmadığı belirtilmiştir. İnsanlarda yapılan bir diğer çalışmada, MLT salgılanmasının kısa dalga boylu ışığa (446-477 nm) maruziyetle baskılandığı bildirilmiştir (Brainard ve ark 2001). Kısa dalga boyu spekturumunda (465-485 nm) olan ışıkların memelilerde MLT üretimini baskıladığı gösterilmiştir (Lockley ve ark 2003, Mainster 2006, Brainard ve ark 2008). Diğer yandan ışığın MLT sentez ve salınımı üzerine etkilerinin farklı türlerde benzerlik göstermediği bilinmektedir. Örneğin hamsterlarda 640 nm dalga boyundaki ışık uygulamasının pineal bezden MLT salgısını inhibe ettiği, insanlarda ise 460 nm'de MLT supresyonunun gerçekleştiği, 630 ve 700 nm'de ise serum MLT düzeylerinin hafif azaldığı bildirilmiştir (Hanifin ve ark 2006). Gerçekleştirilen bu çalışmada da 15 gün boyunca uygulanan 652 nm dalga boyundaki hayvan göz seviyesinde 50 lüks şiddetindeki kırmızı ışığın, sağmal ineklerde serum MLT düzeylerini karanlık uygulamasına göre önemli düzeyde değiştirmediği belirlenmiştir. Bu durum, kırmızı ışık ile gece aydınlatması yapılacak çiftliklerde MLT sentezinin azalmadığını göstermesi açısından önemlidir.

Süt ineklerinde serum MLT düzeyleri Castro ve ark (2011) tarafından 16,2±2,3 pg/ml, Eriksson ve ark (1998) tarafından 7±2 pg/ml olarak bildirilmiştir. Kırmızı ışık veren LED ampül ile gerçekleştirilen bu çalışmada kontrol grubunda sabah ve akşam saatlerinde elde edilen serum MLT düzeyleri kontrol sabah grubunda 7,02 pg/ml Erikkson ve ark (1998) yakın, akşam grubunda ise biraz yüksek 8,71 pg/ml olarak ölçüldü. Kırmızı ışık deneme gruplarında ise 7,53-8,59 pg/ml aralığında seyretti.

Fotoperiyodik olarak pineal bezden sentezlenen MLT hormonunun insan, inek ve keçi sütünde varlığı ve düzeyleri (5-25 pg/ml) ortaya konulmuştur (Eriksson ve ark 1998, Valtonen ve ark 2003, Castro ve ark 2011). İneklerde süt MLT düzeyleri farklı araştırıcılar tarafından farklı düzeylerde bildirilmiştir: Ayrshire ırkı ineklerde süt MLT düzeyleri 7±2 pg/ml, (Erikkson ve ark 1998), kuru döneme giren

Holştayn-Friesian ineklerde şubat ayında 5,4 pg/ml, ağustos ayında 11,8 pg/ml (Schaper ve ark 2015), süt ineklerinde haziran ayında 2,9±0,6 pg/ml olarak belirlenmiştir (Castro ve ark 2011). Çalışmadaki süt MLT düzeyleri (3,93-5,23 pg/ml aralığında), Erikkson ve ark (1998) ile Schaper ve ark (2015)'in bildirdiği düzeylerden hafif düşük, Castro ve ark (2011)'in bildirdiği düzeylerden hafif yüksek olarak belirlendi.

MLT'in sütteki konsantrasyonu, serum konsantrasyonu ile paralel olarak diürnal bir seyir izlemektedir. En yüksek konsantrasyon gece, en düşük konsantrasyon öğle saatlerindedir. Bu nedenle gece saatlerinde sağılan sütler (gece 2-4 arası) gündüz sağılan sütlere oranla daha yüksek MLT içermektedir (Milagres ve ark 2014). Çalışmada sabah 06.00 civarında alınan kan ve süt örnekleri ile akşam 18.00 civarında alınan kan ve süt örnekleri arasında MLT düzeyleri yönünden bir farklılık gözlemlenmedi. Bu durum, MLT hormonunun kısa yarılanma ömrü ile ilgili olabilir. Melatoninin kandaki yarılanma süresi yaklaşık 40 dakikadır (Çevik ve Yurdaydın 1998). Özel bir sirkadiyen ritime sahip olan MLT'in salınımının akşam 21.00-22.00 saatlerinde artmaya başladığı, 02.00-04.00 saatlerinde maksimum seviyeye ulaşırken, sabah 05.00-07.00'de azalmaya başladığı ve 07.00'den sonra bazal seviyelere düştüğü bildirilmiştir (Claustrat ve ark 2005, Castro ve ark 2011). Pineal bez kan dolaşımındaki MLT miktarının yaklaşık % 80'ini sentezler. Diğer yandan, MLT sentezi sadece pineal bez ile sınırlı değildir. Melatoninin sentezinde görev aldığı bilinen hidroksiindol-O-metiltransferaz (HIOMT) enziminin pineal bez dışındaki organlarda bulunması, MLT sentezinin pineal bez dışında da gerçekleştiğini düşündürmüştür. Harder bezi, lakrimal bez, retina, eritrositler, trombositler ve gastrointestinal sistemdeki bazı hücrelerin MLT sentezlediği bildirilmiştir (Cardinali ve ark 1998). Meme bezinden MLT salgılandığına dair bir literatür veriye rastlanılmamıştır. Süt ve serum MLT düzeylerinin paralel bir seyir izlediğine dair bilgi bulunmasına karşın (Milagres ve ark 2014), hayvanların laktasyon ve laktasyon dışındaki dönemlerine göre bu paralelliğin değiştiği bildirilmektedir. Ayrshire ırkı ineklerde laktasyon döneminde süt MLT düzeyleri gündüz 7±2 pg/mliken, gece 15±1 pg/ml düzeylerinde olup serum MLT düzeyleri ile bir korelasyon göstermemiş (gündüz 7±2 pg/ml, gece 27±7 pg/ml), laktasyon dışındaki dönemde ise süt ve serum MLT düzeyleri paralel bir şekilde değişim göstermiştir (Erikkson ve ark 1998). Bu çalışma laktasyonun ortalama 110. günündeolan Siyah Alaca ineklerde yürütüldü. Süt MLT düzeyinin

serum MLT ile aynı oranlarda değişmemesi Erikkson ve ark (1998)'ın çalışması ile uyumluluk göstermektedir.Diğer yandan Vanecek (1998) ve Castro ve ark (2011)'ın kan ve süt melatonin konsantrasyonları arasında bir ilişki varlığını ileri sürdükleri çalışmaları ile farklılık göstermektedir.Ayrıca çalışmada kırmızı ışık uygulamasını takiben 5., 10. ve 15. günlerde süt MLTdüzeylerinin düştüğü, istatistiksel farkın 10. günlerde tespit edildiği gözlendi. Süt ve serum MLTdüzeyleri arasında istatistiksel olarak önemli korelasyonlarsadece kontrol 15. günde ve deneme 10. günde tespit edildi. Bu bulgular eşliğinde, süt MLT düzeylerinin, kırmızı ışık uygulamasına, serum MLT düzeylerinden farklı bir cevap verdiği, serum ve süt MLT düzeylerinin her zaman paralel seyretmediği, süt MLT düzeylerini kontrol eden başka mekanizmalar olabileceğidüşünülebilir.

Süt üretimi ve süt içeriği ile MLT arasında bazı ilişkilerin varlığı düşünülmektedir. Auldist ve ark (2007) tarafından merada otlayan süt ineklerine dışardan uygulanan (implant) MLT süt verimini azaltmış, süt laktoz düzeylerini düşürürken, yağ, protein ve kazein düzeylerini yükseltmiştir. Holştayn ineklerde dışardan uygulanan MLT implantı, süt somatik hücre sayısını azaltmış, ayrıca, kortizol düzeylerini düşürürken, serum albümin alanintransferaz ve laktatdehidrogenaz düzeylerini artırmıştır (Yang ve ark 2017). Çalışmasında MLT uygulamasından sonra, Ig G ve Ig M konsantrasyonu geçici olarak yükselmiş, ardından beyaz kan hücreleri ve lenfositler önemli ölçüde azaldığı belirtildi. Sonuç olarak, MLT tedavisi ineklerde bağışıklık aktivitesini iyileştirerek SHS'yi azaltmış, sütün kalitesini iyileştirmiştir.

Süt yağı, vücudun ana enerji kaynağı olan farklı yağ türlerinin karmaşık bir karışımıdır. Süt yağ içeriği artıkça sütün kalitesi iyileşir (Romero Velarde ve ark 2019). Molik ve ark (2011) koyunlarda farklı mevsimlerde MLT uygulamasının ve kısa gün fotoperiyodunamaruziyetin, koyun sütünün protein, yağ ve laktoz seviyeleri ve yağ asidi içeriği üzerinde önemli etkileri olduğunu göstermiştir ($P<0,01$). Yapılan bu çalışmada 5. gün kontrol grubu serum MLT düzeyleri ile süt yağı düzeyleri arasında yüksek pozitif bir korelasyon ($r=+0.94$, $p<0.01$) gözlemlendi. Ayrıca 5.gün kırmızı ışık grubu sabah ve akşam serum MLT düzeyleri ile süt yağı düzeyleri arasında da yüksek pozitif korelasyonlar ($r=+0.89$, $p<0.05$) belirlendi. Serum MLT düzeyleri ile süt yağ düzeyleri arasındaki bu korelasyon kırmızı ışık 10. günde de görülmesine rağmen, kontrol grubunda belirlenmedi. Işık uygulaması ile sütteki yağ

içeriğinin olumlu biçimde etkilendiği düşünülebilir. Diğer yandan, endojen MLT ile eksojen MLT'in süt parametreleri ile farklı etkileşimleri olabilir ayrıca MLT dozu da bu etkileşimde önemli olabilecek hususlardandır.

Melatonin gibi antioksidan enzimlerin aktivitesini artıran diğer faktörler (Andrés ve ark 2009) SHS'yi azaltmak için faydalı olacaktır. Melatonin implantlarının ilave olarak kan ve sütteki MLT miktarının artırılması da süt kalitesi ve özellikle SHS üzerindeki etkisini değerlendirilmesi bu çalışmanın amaclarından olan kaliteli süt elde edilmesi fikrini destekler niteliktedir. Keçilere laktasyon başlangıcında MLT verilmesi sütte SHS'yi azaltmıştır. Bununla birlikte, MLT'in süt bileşimi üzerinde herhangi bir etkisi bulunmadı (Eriksson ve ark 1998). Bu çalışmada da değişen günler için 10. gün haricinde SHS ve süt parametrelerinde önemli sayılan değişikler gözlemlenmemiştir ($p>0,05$). Bu nedenle, süt keçilerinde üreme amaçlarına ek olarak MLT kullanımı, SHS'yi azaltarak süt kalitesini iyileştirmek için umut verici olarak kullanılabilir ancak kullanımında maliyet analizine dikkat edilmesi gerekli olduğunu vurgulamışlardır. Bizim araştırmamızda MLT miktar ve salınımını azaltmadan kırmızı ışık ile aydınlatma az maliyetli alternatif bir uygulamaolarak öne çıkarılabilir.

Jimenez ve ark (2009) süt keçilerinde SHS'yi azaltmak için MLT implantlarının olası etkinliğini değerlendirdikleri çalışmada, Verata ırkı sağılan 60 keçiyi rastgele iki gruba ayırdı. Deneme grubuna sağ kulak kepçesine 18 mg MLT implant uyguladı. Laktasyon sırasında deneydeki kan ve süt örnekleri 3 gün aralıkla 4 ay süresince alındı. Melatonin uygulaması, implant uygulanan grupta deneyin belirli anlarında kan glutatyon peroksidaz (GSHPx), glutatyon redüktaz (GR) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktivitelerini önemli ölçüde arttırdı. Süt bileşimi için anlamlı bir fark bulunmazken, laktasyonun ortasında implante edilen grupta SHS, kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulundu.

Melatonin insan, sığır ve keçi sütünde (Eriksson ve ark 1998, Valtonen ve ark 2003) düşük konsantrasyonda (5–25 pg ml^{-1}) bulunur. Sütteki konsantrasyonu, serum ile birdereceye kadar paralel olarak seyreder. Günlük normal bir ritimdegece yarısı maksimum ve öğlen minimum konsantrasyon gösterir (Jouan ve ark 2006). Gece sütünün yaşlı insanlarda uyku ve günlük aktiviteyi iyileştirmek için MLT kaynağı olarak kullanılabileceğiiddia edilmektedir (Valtonen ve ark 2005).

Çalışmanın 10. gününde kontrol grubunda akşam serum MLT düzeyleri ile süt SHS arasında negatif bir korelasyon ($r=-0.81$, $p<0.05$) belirlendi. Ayrıca kırmızı ışık uygulanmasının 10. günü akşam serum MLT düzeyleri ile süt SHS arasında negatif bir korelasyon belirlendi ($r=-0.81$, $p<0.05$). Yang ve ark (2017)'ın da bildirdiği gibi araştırmamızdan elde edilen MLT ile SHS arasındaki bu negatif korelasyonun mastitisi önlemekte önemli olabileceği düşünülmektedir. Araştırmamızda da kırmızı ışık ile 50 lükslük bir gece aydınlatması yapılmış olmasına rağmen serum ve süt MLT düzeylerinin istatistiki olarak azalmamış olması önemli bir bulgu olarak değerlendirilebilir.

İnek sütünde yaptıkları çalışmada süt yağı (%) ile süt SHS ve süt protein (%) düzeyleri arasındaki ilişkiyi sırasıyla r=0,37 ve r=0,63 olarak tespit etmişlerdir. Benzer biçimde bu çalışmada korelasyonlar, deneme grubu 15. gün akşam süt SHS ile süt yağı arasında r=0,60, sabah grubunda süt yağı ile süt protein düzeyleri arasında r=0,61 olarak hesaplanmıştır. Süt yağı ile süt SHS arasındaki korelasyon ise bu araştırmadan biraz yüksek olarak (r=0,62) ifade etmişlerdir (Ikonen ve ark 2004).Her iki araştırmada da korelasyonlaristatistiki olarak önemli olmadığı görüldü (P>0,05).Deneme grubu akşamında 5. günder=-0,81 $p<0.05$ olan ilişki düzeyi 10 günde r=+0,36 ve 15 günde ise r=+0,12 olarak kırmızı ışıktan etkilenerek değişmiş olabileceği tespit edildi. Serum MLT ile SHS, ise 5. günde r=+0,87 ($p<0.05$), 10. günde r=+0,44 ve 15. günde r=-0,72 olarak hesaplandı. Serum MLT düzeyindeki bu değişim eğilimi mastitis oluşumunu önleme ve süt kalitesini iyileştirme bakımından önemli bir bulgu olabileceği değerlendirilebilir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırmada elde edilen veriler sonucunda Türk Siyah Alaca ineklerinde 15 günlük kırmızı LED ampuller (652 nm) ile gece (12 saat boyunca) aydınlatmasında serum ve süt MLT düzeyleri ile süt parametrelerinin olumsuz etkilenmediği görülmüştür.

Kırmızı ışığın etkisini ölçmeye çalıştığımız bu çalışmada sabah kontrol ve sabah deneme gruplarında ölçülen serum MLT, süt MLT ve süt SHS açısından istatistikî bir farklılık tespit edilmedi (P>0,05). Akşam kontrol ve akşam deneme gruplarında ise aynı değerler için sadece süt MLT grubunun 10. gününde istatistiki bir farklılık elde edildi (P=0,004).

Süt bileşenlerinin fenotipik korelasyonları incelendiğinde ise FAT ve SHS kırmızı ışık gruplarında kontrol grubuna göre daha fazla etkilediği tespit edildi. Serum MLT ile süt MLT ve süt parametreleri arasında günler ve sabah akşam örneklerinde önemli değişimler tespit edilmedi. Yalnızca serum MLT ile süt MLT arasında 15. günde çok yüksek pozitif bir ilişki belirlendi. Ayrıca serum MLT ile FAT arasında sabah ve akşam güçlü bir ilişki görülürken, MLT ile DEN arasında negatif kuvetli bir ilişkinin varlığı belirlendi.

Bu araştırmada kırmızı LED ampüller ile 12 saat aydınlatmanın süt parametrelerine herhangi bir olumsuz etkisinin olmadığı görüldü. Hatta yağ, protein ve SHS bakımından olumsuzlukları gidermesi açısından etkili olabileceği düşünülebilir. Araştırmanın 5, 10 ve 15. günündeki süt MLT düzeyleri ile süt SHS arasında ilişkilerden de anlaşılacağı gibi kaliteli süt üretimi için gece aydınlatmalarında kırmızı LED ampuller ciddi bir olumsuzluk ortaya çıkarmadan kullanılabilir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar gösterdi ki; başka renk, şiddet süre ve dalga boylarındaki LED ampüllerle ahır aydınlatması yapılan işletmelerde süt verimi ve parametrelerinin incelenmesi gerekmektedir. İleri detay çalışmalar yapılması, MLT'in verim, hayvan sağlığı ve kalitelisüt üretimi üzerine etkilerinin ortaya konulması önerilmektedir.

Sonuç olarak zorunlu gece aydınlatmalarında uygun kırmızı ışık uygulamaları ile üretilen sütün ayrı toplanması, melatonin seviyelerinde önemli

düşüşlere yol açmadan zengin içerikli kaliteli süt elde etmeyi mümkün kılabilecektir. Gece barınak içi aydınlatmalarda 652 nm dalga boyuna sahip ışık ile 12 saat boyunca aydınlatma, karanlıkta olduğu gibi kan MLT seviyesininde önemli düşüşlere yol açmadan kullanılmasında bir sakınca olmadığı belirlendi.

6. KAYNAKLAR

Akıllı A, Atıl H, Kesenkaş H, 2014, Çiğ süt kalite değerlendirmesinde bulanık mantık yaklaşımı. Kafkas Univ Vet Fak Derg, 20, 2, 223-29.

Alfernik RG, 2015. United States Patent No. US20150146420A1.https ://paten ts.google.com/paten t/US201 50146420A1/ en.

Andrés S, Sánchez J, Jiménez A, 2009. Evaluation of the influence of melatonin implants during the gestation period in sheep from a selenium-deficient region. AJVR, 70, 3,404-8.

Anitaş Ö, Göncü S, Koluman N, 2017. Süt Keçiciliğinde Somatik Hücre Sayısının Önemi ve Süt Kalitesine Etkisi, Çukurova Tarım Gıda Bil Dergisi, 32, 1, 35-42.

Anonim 1981. IDF https://fil-idf.org/publications/bulletin/membrane-processes-guidelines-for-testing-equipment-terms-and-definitions/pdf. (Erişim: 18.06.2021, 11.23)

Anonim 2005. ASABE Lighting Systems for Agricultural Facilities. ASABE EP344.2, ASAE Standards, 40th edition, St. Joseph, MI 49085-9659.

Anonim, 2020. (SJVFS 2010:15) Swedish Board of Agriculture regulations and general advice) on cattle farming within agriculture, etc. https://members.wto.org/crnattachments/2014/TBT/SWE/14_2576_02_x.pdf

Arendt J, 1988. Melatonin. Clın Endocrınol. 29, 205-229.

Arendt J, Ravault JP, 1988. Suppression of melatonin secretion in ÎIe-de-France rams by different light intensities. J Pıneal Res, 5, 3, 245–250.

Arnao MB, Ruiz JH, 2018. The Potential of phytomelatonin as a nutraceutical. Molecules, 23, 1, 238.

Asher A, Shabtay A, Brosh A, Eitam H, Agmon R, Cohen-Zinder M, Zubidat AE, Halm A, 2015. Chrono-functional milk, The difference between melatonin concentration in night milk versus day milk under different illumination conditions. Chronobiol Int, 32, 1409–16.

Asher G, Corsi SP, 2015. Time for food: the intimate interplay between nutrition, metabolism, and the circadian clock. Cell Mar 26, 161, 1, 84-92.

Atasoy ÖB, Erbaş O, 2017. Melatonin hormonunun fizyolojik etkileri. FNG Bilim Tıp Dergisi, 3, 1, 52-62.

Auldist M, Turner S, McMahon C, Prosser C, 2007. Effects of melatonin on the yield and composition of milk from grazing dairy cows in New Zeal J Dairy Sci Res, 74, 1, 52-7.

Ayaki M, Hattori A, Maruyama Y, Nakano M, Yoshimura M, Kitazawa M, Negishi K, Tsubota K, 2016. Protective effect of blue-light shield eyewear for adults against light pollution from self-luminous devices used at night. Chronobiol Int, 33, 1, 134–39.

Azizi M, Pasbakhsh P, Nadji SA, Pourabdollah M, Mokhtari T, Sadr M, Omidie N, Kashania IR, Zendehdel A, 2018. Therapeutic effect of perinatal exogenous melatonin on behavioral and histopathological changes and antioxidative enzymes in neonate mouse model of cortical malformation. International Journal of Developmental Neuroscience. Int J Dev Neurosci, 68, 1-9.

Bal MA, Penner GB, Oba M, Kennedy AD, 2008. Effects of dim light at night on milk yield, milk composition and endocrine profile of lactating dairy cows. Can J Anim Sci, 88, 4, 609–12.

Baştan A, 2010. Düve Mastitisleri. İneklerde Meme Sağlığı ve Sorunları, Kardelen Ofset Matbaacılık, Tanıtım Hizmetleri, Ankara. 28-231.

Baştan A, Küplülü Ş, 1995. Akkaraman ırkı koyunlarda melatonin ve progestagen uygulamalarının reprodüktif performans üzerine etkileri. Ank Üniv Vet Fak Derg 4, 2, 263-70.

Bernard M, Guerlotté J, Grève P, Gréchez-Cassiau A, Iuvone MP, Zatz M, Chong NW, Klein DC, Voisin P, 1999. Melatonin synthesis pathway, circadian regulation of the genes encoding the key enzymes in the chicken pineal gland and retina. Reprod Nutr Dev, 39, 3, 325-34.

Brainard GC, Hanifin JP, Greeson JM, Byrne B, Glickman G, Gerner E, Rollag MD, 2001. Action spectrum for melatonin regulation in humans, Evidence for a novel circadian photoreceptor. J Neurosci, 21, 16, 6405–12.

Brainard GC, Sliney D, Hanifin JP, Glickman G, Byrne B, Greeson JM, Rollag, MD, 2008. Sensitivity of the human circadian system to short-wavelength (420-nm) light. J Biol Rhythm, 23, 5, 379–86.

Bubenik GA, 2001. Localization, physiological significance and possible clinical implication of gastrointestinal melatonin. Biol Signals Recept,10, 6, 350-66.

Bubenik GA, Konturek SJ, 2011. Melatonin and aging, prospects for human treatment. Physiol Pharmacol, 62, 1, 13-9.

Cajochen C, Münch M, Kobialka S, Kräuchi K, Steiner R, Oelhafen P, Orgül S, Wirz-Justice A, 2005. High sensitivity of human melatonin, alertness, thermoregulation, and heart rate to short wavelength light. J Clin Endocrinol Metab, 90, 3, 1311-6.

Cao LT, Wu JQ, Xie F, Hu SH, Mo Y, 2007. Efficacy of nisin in treatment of clinical mastitis in lactating Cardinali dairy cows. J Dairy Sci 8, 3980–85.

Caraviello DZ, Weigel KA, Shook GE, Ruegg PL, 2005. Assessment of the ımpact of somatic cell count on functional longevity in holstein and jersey cattle using survival analysis methodology, J Dairy Sci, 88, 2, 804-11.

Cardinali DP, 2016. Melatonin and the stone of madness-Springer International Publishing 26-28, ISBN: 978-3-319-41678-6,978-3-319-41679-3.

Cardinali DP, Pévet P, 1998. Basic aspects of melatonin action. Sleep Med Rev, 22, 175-190.

Castro N, Spengler M, Lollivier V, Wellnitz O, Meyer HHD, Bruckmaier RM, 2011. Diurnal pattern of Melatonin in blood and milk of dairy cows. Milchwissenschaft 66, 4, 352-3.

Chanut E, Legros JN, Botteri CV, Trouvin JH, Launay JM, 1998. Determination of melatonin in rat pineal, plasma and retina by high performance liquid chromatography with electrochemical detection. J Chromatogr B 709, 1,11–18.

Chen YC, Sheen JM, Tiao M M, Tain YL, Huang LT, 2013. Roles of Melatonin in fetal programming in compromised pregnancies. International Journal of Molecular Sciences, 14, 5380–5401.

Cheung IN, Zee PC, Shalman D, Malkani RG, Kang J, Reid KJ, 2016. Morning and evening blue-enriched light exposure alters metabolic function in normal weight adults. PloS One, 18, 11, 5.

Cho S, Han A, Taylor MH, Huck AC, Mishler AM, Mattal KL, Barker CA Seo HS, 2015. Blue lighting decreases the amount of food consumed in men, but not in women. Appetite, 85, 111-7.

Claustrat B, Brun J, Chazot G, 2005. The basic physiology and pathophisology of Melatonin. Sleep Medicine Reviews, 9, 11-24.

Conzuelo F, Gamella M, Campuzano S, Ruiz MA, Reviejo AJ, Pingarron JM, 2010. Anintegrated amperometric biosensor for determinationof lactose in milk and dairy products. J Agric FoodChem, 58, 7141-48.

Crawford HM, Morin DE, Wall EH, McFadden TB, Dahl GE, 2015. Evidence for a role of prolactin in mediating effects of photoperiod during the dry period. Animals, An Open Access Journal from MDPI, 5, 3, 803–20.

Çam A, Erdoğan MF, 2003. Melatonin. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, 56, 2, 103-112.

Çetin E, 2005. Melatonin ve Bağışıklık Sistemi Erciyes Üniv Vet Fak Derg 2, 2, 119-23.

Çevik M, Yurdaydın N, 1998. Evcil hayvanlarda fotoperiyodizm ve dölverimine etkisi. Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi, 38, 1, 69-78.

Dahl GE, 2010. Photoperiod Management of Dairy Cattle. Minnesota Dairy Health Conference, University of Minnesota, St. Paul.

Dahl GE, Buchanan BA, Tucker HA, 2000. Photoperiodic effects on dairy cattle, A review. J Dairy Sci, 83, 4, 885–93.

Dahl GE, Petitclerc D, 2003. Management of photoperiod in the dairy herd for improved production and health. J Anim Sci, 81, 11–17.

Dahl GE, Tao S, Thompson IM, 2012. Lactation Biology Symposium, Effects of photoperiod on mammary gland development and lactation. . J Anim Sci, 90, 3, 755–60.

Dannenmann K, Buchenauer D, Fleigner H, 1985. The behaviour of calves under four levels of lighting. Appl Anim Behav Sci, 13, 243-258.

Deborah DL, Bilu D, Bilbo SD, Nelson RJ, 2001. Melatonin enhancement of splenocyte proliferation is attenuated by luzindole, a Melatonin receptor antagonist. Am J Physiol-Reg I, 280, 5, 1476-82.

Demirhan B, 2011. Gece ve gündüz yaptırılan tükenme egzersizlerinin serum melatonin düzeylerine etkisi. YL Tezi, s 1-5, SÜ Sağ Bil Enst, Konya.

Deveson SL, Arendt J, Forsyth IA, 1990. Sensitivity of goats to a light pulse during the night as assessed by suppression of melatonin concentrations in the plasma. J Pineal Res, 8, 2, 169–77.

Dubocovich ML, Markowska M, 2005. Functional MT_1 and MT_2 melatonin receptors in mammals. Endocrine, 27, 101–10.

Egoshi K, Oka T, Yamashita H, 2000. Quantitative analysis of melatonin in raw milk by HPLC. Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi 54, 3, 113–7.

Ekmekcioğlu C, 2014. Expression and putative functions of melatonin receptors in malignant cells and tissues. Wien Med Wochenschr, 164, 472–78.

Elsabagh M, Mon M, Takao Y, Shinoda A, Watanabe T, Kushibiki S, Obitsu T, Sugino T, 2020. Exposure to blue LED light before the onset of darkness under a long day photoperiod alters melatonin secretion, feeding behaviour and growth in female dairy calves. Anim Sci J, 91, e13353.

Emre B, 1993. Pineal Bez ve Melatonin. AÜ Vet Fak Derg 40, 3, 336-45.

Eriksson K, Ostin A, Levin J, 2003. Quantification of melatonin in human saliva by liquid chromatography-tandem mass spectrometry using stable isotope dilution. J Chromatogr B, 794, 115-23.

Eriksson L, Valtonen M, Laitinen JT, Paananen M, Kaikkonen M, 1998. Diurnal rhythm of melatonin in bovine milk, Pharma- cokinetics of exogenous melatonin in lactating cows and goats. Acta Vet Scand, 39, 301–10.

Fejzic N, Begagic M, Šerić-Haračić S, Smajlovic M. 2014. Beta lactam antibiotics residues in cow's milk: comparison of efficacy of three screening tests used in Bosnia and Herzegovina. Bosn J of Basic Med Sci 14, 3, 155-9.

Fox PF, McWeeney PLH, 2003. Advanced Dairy Chemistry. Volume 1. In Chapter 1, Milk Proteins, General and Historical Aspects. Third Edition. Part A. New York, Springer Verlag Publish.

Gavan C, Motorga V, 2009. The effect of supplemental light on milk production in holstein dairy cows. Scientific Papers Anim Sci and Biotch, 42, 2, 261-65.

Gehardt SE, Thomas RG, 2006. Nutritive Value of Foods. United States Department of Agriculture (USDA), Agricultural Research Service. Home and Garden Bulletin. Number 72.

Gomes P, Soares-da-Silva PL, 1999. DOPA transport properties in an immortalised cell line of rat capillary cerebral endothelial cells. RBE 4. Brain Res 829, 143-50.

Grajcar Z, 2017. United States Patent No. US9700019B2. Retrieved from https://patents.google.com/patent/US9700019B2/en.

Hanifin JP, Stewart KT, Smith P, Tanner R, Rollag M, Brainard GC, 2006. High-intensity red light suppresses melatonin. Chronobiol Int, 23, 1-2, 251-68.

Hardeland R, 2008. Melatonin, hormone of darkness and more, occurrence, control mechanisms, actions and bioactive metabolites. Cell Mol Life Sci, 65, 13, 2001-18.

Harner JP, Zulovich JM, 2014. Application of light emitting diodes in dairy facilities, 103–109, High Plains Dairy Conference, Lubbock, TX.

He CJ, Zhang Z, Yan, M, Li Y, Tian X, Ma T, Tao J, Zh, K, Song Y, 2016a. Mitochondria synthesize melatonin to ameliorate its function and ımprove mice oocyte's quality under in vitro conditions. Int J Mol Sci, 17, 939.

He YM, Deng H, Jiang Z, Li Q, Shi M, Chen H, Han Z, 2016c. Effects of melatonin on follicular atresia and granulosa cell apoptosis in the porcine. Mol Reprod Dev, 83, 692–700.

He YM, Deng HH, Shi MH, Bodinga BM, Chen HL, Han ZS, Jiang ZL, Li QW, 2016b. Melatonin modulates the functions of porcine granulosa cells via its membrane receptor MT_2 in vitro. Anim Reprod Sci, 172, 164–172.

Herrero MJ, Martínez FJ, Míguez J M, Madrid JA, 2007. Response of plasma and gastrointestinal melatonin, plasma cortisol and activity rhythms of European sea bass, Dicentrarchus labrax to dietary supplementation with tryptophan and melatonin. J Comp Physiol B, 177, 3, 319-26.

Holzman DC, 2010. What's in a color? The unique human health effects of blue light. Environmental Health Perspectives, 118, 1, A22–27.

Huether G, 1993. The contribution of extrapinealsites of melatonin synthesis to circulating melatonin levels in higher vertebrates. Experientia, 15, 49, 8, 665-670.

Illnerova H, Buresova M, Presl J, 1993. Melatonin rhythm in human milk. J Clin Endocrinol Metab 77, 3, 838–841

Ikonen S, Morri A, Tyrisevä M, Ruottinen O, Ojala M, 2004. Genetic and phenotypic correlations between milk coagulation properties, milk production traits, somatic cell count, casein content, and ph of milk, J Dairy Sci, 87, 2, 458-67.

Janni K. 2000. Lighting Dairy Facilities. URL: http://www.bae.umn.edu/extens/ennotes/ensum99/lighting.html. University of Minnesota. , (Erişim 3 Mart 2020, 16.52).

Karunanithi D, Radhakrishna A, Sivaraman KP, Biju V, 2014. Quantitative determination of melatonin in milk by LC-MS/MS. J Food Sci Technol, 51, 805–12.

Kayaba M, Iwayama K, Ogata H, Seya Y, Kiyono K, Satoh M, Tokuyama K, 2014. The effect of nocturnal blue light exposure from light-emitting diodes on wakefulness and energy metabolism the following morning. Environ Health Prev Med, 19, 5, 354-61.

Kollmann MT, Locher M, Hirche F, Eder K, Meyer HHD, Bruckmaier RM, 2008. Effects of tryptophan supplementation on plasma tryptophan and related hormone levels in heifers and dairy cows. Domest Anim Endocrinol 34, 14–24.

Kul E, Şahin A, Atasever S, Uğurlutepe E, Soydaner M, 2019. The effects of somatic cell count on milk yield and milk composition in Holstein cows. Veterinarski Arhiv 89 2, 143-54.

Lacasse P, Vinet CM, Petitclerc D, 2014.Effect of prepartum photoperiod and melatonin feeding on milk production and prolactin concentration in dairy heifers and cows. J Dairy Sci, 97, 6, 3589-98.

Lawson TJ, Kennedy AD, 2001. Inhibition of nighttime melatonin secretion in cattle, threshold light intensity for dairy heifers. Can J Anim Sci, 81, 153-156.

Lee CJ, Do BR, Lee YH, Park JH, Kim SJ, Kim JK, Yoon HS, 2001. Ovarian expression of Melatonin Mel1a receptor mRNA during mouse development. Mol Rreprod Dev, 59, 126–132.

Lerner AB, Case JD, Takahashi Y, Lee TH, Mori W, 1958.Isolation of melatonin, The Pıneal Gland Factor That Lıghtens Melanocytes. J Am Chem Soc, 80, 10, 2587–87.

Lewy AJ, Emens J, Jackman A Yuhas K, 2006. Circadian uses of melatonin in humans, Chronobiol Int, 23, 1-2, 403-12.

Lockley SW, Brainard GC, Czeisler CA, 2003. High sensitivity of the human circadian melatonin rhythm to resetting by short wavelength light. J Clin Endocr Metab, 88, 9, 4502–05.

Mainster MA, 2006. Violet and blue light blocking intraocular lenses, Photoprotection versus photoreception. Brit J Ophthalmol, 90, 6, 784–792.

Martinez JL, Fajardo A, Garmendia L, Hernandez A, Linares JF, Martínez-Solano L, Sánchez MB, 2009. A global view of antibiotic resistance. FEMS Microbiol Rev, 33, 1, 44-65

McCance R, Widdowson E, 1988. The Composition of Foods. Fourth Editi¬on, Elsevier/North-Holland Biomedical Press, London.

Milagres MP, Minim VPR, Minim L A, Simiqueli AA, Moraes LES, Martino HSD, 2014. Night milking adds value to cow's milk. J Sci Food Agr, 94, 8, 1688–92.

Miller GD, Jarvis KJ. McBean LD, 2000. Handbook of Dairy Foods and Nutrition. In, Jensen RG, Kroger M, editors. The Importance of Milk and Milk Products in the Diet, CRC Press, New York, p 4.

Molik E, Bonczar G, Żebrowska A, Misztal T, Pustkowiak H, Zięba D, 2011. Effect of day length and exogenous melatonin on chemical composition of sheep milk, Arch Anim Breed, 54, 177–187.

Murphy BA, Herlihy MM, Nolan, MB, Butler, ST, 2017. Blue light from light-emitting diodes(LEDs) directed at a single eye elicits a dose-dependent suppression of melatonin in dairy cows. J Dairy Sci, 100, 2.

Murphy BA, Walsh CM, Woodward EM, Prendergast RL, Ryle JP, Fallon LH, Troedsson MHT, 2014. Blue light from individual light masks directed at a single eye advances the breeding season in mares. Equine Vet J, 46, 5, 601-5.

Mortazavi SAR, Parhoodeh S, Hosseini MA, Arabi H, Malakooti H, Nematollahi S, Mortazavi G, Darvish L, Mortazavi SMJ, 2018. Blocking short-wavelength component of the visible light emitted by smartphones' screens ımproves human sleep quality. J Biomed Phys Eng; 8, 4, 375-80.

Muthuramalingam P, Kennedy AD, Berry RJ, 2006. Plasma melatonin and insulin-like growth factor-1 responses to dim light at night in dairy heifers. J Pineal Res, 40, 225-9.

Niles LP, Wang J, Shen L, Lobb DK, Younglai EV, 1999. Melatonin receptor mRNA expression in human granulosa cells. Mol Cell Endocrinol, 156, 107–110.

Okatani Y, Morioka N, Hayashi K, 1999. Changes in nocturnal pineal melatonin synthesis during the perimenopausal period, Relation to estrogen levels in female rats. . J Pineal Res, 27, 65–72.

Olsson P, 2020. The effect of low light intensiti esand red lighton heart rate, blood pressure, respiratory rate and activity in dairy cows. Masterin Animal Science Place of publication, Uppsala Place of publication, Uppsala. http://epsilon.slu.se, (Erişim 3 Mart 2020, 16.42).

Ostrin LA, 2019. Ocular and systemic melatonin and the influence of light exposure. Clin Exp Optom, 102:2, 99-108.

Ölmez E, Sahna E, Agkadir M, Acet A, 2000. Melatonin, Emeklilik yaşı 80 olur mu? Turgut Özal Tıp M Derg, 7, 2, 177-87.

Özçelik F, Erdem M, Bolu A, Gülsün M, 2013. Melatonin, general features and its role in psychiatric disorders, Current Approaches in Psychiatry, 5, 2, 179-203.

Özdemir Z, Ak O, Yüceer HC, Akgör D, Aysun D, Çağan A, İlhan Ş, 2018. http://tip.baskent.edu.tr/kw/upload/464/dosyalar/cg/sempozyum/ogrsmpzsnm16/16.P7.pdf, (Erişim: 12.12.2018 11.58).

Özgüner F, Özcankaya R, Delibaş N, Koyu A, Çalışkan S, 1995. Melatonin ve klinik önemi, SDÜ Tıp Fak Derg, 2, 1-6.

Papamichael C, Skene DJ, Revell VL, 2012. Human nonvisual responses to simultaneous presentation of blue and red monochromatic light. J Biol Rhythm, 27, 1, 70-8.

Papis K, Poleszczuk O, Wenta-Muchalska E, Modlinski JA, 2007. Melatonin effect on bovine embryo development in vitro in relation to oxygen concentration. J Biol Rhythm, 43, 321–326.

Pattison PM, Tsao JY, Brainard GC, Bugbee B, 2018. LED's for photons, physiology and food. Nature, 563 7732, 493-500.

Penev PD, Zee PC, 1997. Melatonin, a clinical perspective. Annals of Neurology, 42, 4, 545–53.

Peters RR, Tucker HA, 1978. Prolactin and growth hormone responses to photoperiod in heifers. Endocrinology, 103, 1, 229–234.

Petitclerc D, Chapin LT, Emery RS, Tucker H A, 1983. Body growth, growth hormone, prolactin and puberty response to photoperiod and plane of nutrition in Holstein heifers. Anim Sci J, 57, 4, 892–898.

Pettersson G, Wiktorsson H. 2004. Illumination or guiding light during night hours in the resting area of AMS barns. Automatic milking, a better understanding. Conference Proceedings, Lelystad, Netherlands, March, 468-473.

Phillips CJC, Morris ID, Lomas CA, Lockwood SJ, 2000. The locomotion of dairy cows in passageways with different light intensities. Anim Welfare, 9, 421-31.

Pimputkar S, Speck JS, DenBaars SP, Nakamura S, 2009. Prospects for LED lighting. Nature Photonics, 3, 180–182.

Quay WB, Wılhoft DC, 1964. Comparatıve and regıonal dıfferences ın serotonın content of reptilian braıns. J Neurochem, 11, 805-11.

Reiter R, Rosales-Corral S, Liu X, Acuna-Castroviejo D, Escames G, Tan D X, 2015. Melatonin in the oral cavity, Physiological and pathological implications. J Periodontal Res, 50, 9–17.

Reksen O, Tverdal A, Landsverk K, Kommisrud E, Bøe KE, Ropstad E, 1999. Effects of photointensity and photoperiod on milk yield and reproductive performance of Norwegian red cattle. J Dairy Sci, 82, 810-16.

Reppert SM, Weaver DR, Ebisawa T, 1994. Cloning and characterization of a mammalian melatonin receptor that mediates reproductive and circadian responses. Neuron, 13, 1177–85.

Rizzo V, Porta C, Moroni M, Scoglio E, Moratti R, 2002. Determination of free and total (free plus protein bound) melatonin in plasma and cerebrospinal fluid by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. J Chromatogr B, 774, 17–24

Rocha R, Lima L, Alves A, Celestino J, Matos M, Lima-Verde I, Lima-Verde IB. Bernuci MP, Lopes CAP, Báo SN, Campello CC, 2013. Interaction between melatonin and follicle-stimulating hormone promotes in vitro development of caprine preantral follicles. Domest Anim Endocrin, 44, 1–9.

Romanini EB, Volpato AM, Santos JS, Santana EHW, Souza CHB, Ludovico A, 2019. Melatonin concentration in cow's milk and sources of its variation, J Appl Anim Res, 47, 1, 140-145.

Romero Velarde E, Delgado-Franco D, García-Gutiérrez M, Gurrola-Díaz C, Larrosa-Haro A, Montijo-Barrios E, Muskiet FAJ, Vargas-Guerrero B, Geurts J, 2019. The Importance of Lactose in the Human Diet, Outcomes of a Mexican Consensus Meeting. Nutrients, 11, 2737.

Rozenboim I, Biran I, Uni Z, Robinzon B, Halevy O, 1999. The effect of monochromatic light on broiler growth and development. Poultry Sci, 78, 1, 135-8.

Schaper C, Koethe M, Braun PG, 2015. Melatonin levels in Holstein-Friesian dairy cow milk. Journal of Food Safety and Food Quality, 66, 172-176.

Sert D, Mercan E, Aydemir S, Civelek M, 2016. Effects of milk somatic cell counts on some physicochemical and functional characteristics of skim and whole milk powders. J Dairy Sci, 99, 7, 5254-64.

Shock DA, LeBlanc SJ, Leslie KE, Hand K, Godkin MA, Coe JB, Kelton DF, 2015. Exploring the Characteristics and Dynam- ics of Ontario Dairy Herds Experiencing Increases in Bulk Milk Somatic Cell Count During the Summer. J Dairy Sci, 98, 3741–53.

Shook GE, Schutz MM, 1994 Selection on Somatic Cell Score to Improve Resistance to Mastitis in the United States, J Dairy Sci, 77, 2, 648-58.

Simonneaux V, Ribelayga C, 2003. Generation of the Melatonin endocrine message in mammals, a review of the complex regulation of melatonin synthesis by norepinephrine, peptides, and other pineal transmitters. Pharmacol Rev, 55, 2, 325-95.

Sjaastad ØV, Sand O, Hove K, 2003. Physiology of domestic animals. 2nd edition. Oslo, Scandinavian Veterinary Press, 256- 257.

Soares JM, Simoes MJ, Oshima CT, Mora OA, De Lima GR, Baracat EC, 2003 Pinealectomy changes rat ovarian interstitial cell morphology and decreases proge sterone receptor expression. Gynecol Endocrinol, 17, 115–123.

Şener G, 2010. Karanlığın Hormonu: Melatonin. Marmara Ecza Derg 14, 112-120.

Talpur HS, Chandio IB, Brohi RD, Worku T, Rahman Z, Bhattarainin D, Ullah F, JiaJia F, Yang L, 2018. Research progress on the role of melatonin and its receptors in animal reproduction, A comprehensive review. Reprod Dom Anim, 53, 3, 1–19.

Tamarkin L, Baird, CJ, Almeide OFX, 1985. Melatonin, A coordinating signal for mammalian reproduction. Science, 227, 714-20.

Tan DX, Zheng X, Kong J, Manchester LC, Hardeland R, Kim SJ, Reiter RJ, 2014. Fundamental issues related to the origin of melatonin and melatonin isomers during evolution: Relation to their biological functions. Int J Mol Sci, 15, 15858–90.

Tekeli T, 2005. Kaliteli süt, AB sürecinde kaliteli süt üretimi ve somatik hücre sayısı, 8-18, Konya Ticaret Borsası Yayını, Konya.

Tian X, Wang F, Zhang L, He C, Ji P, Wang J Liu G, 2017. Beneficial effects of melatonin on the in vitro maturation of sheep oocytes and its relation to melatonin receptors. Int J Mol Sci, 18, 820–34.

Valtonen M, Kangas AP, Voutilainen M, Eriksson L, 2003. Diurnal rythm of melatonin in young calves and intake of melatonin in milk, Anim Sci, 77, 149-154.

Valtonen M, Niskanen L, Kangas AP, Koskinen T, 2005. Effect of melatonin-rich night-time milk on sleep and activity in elderly institutionalized subjects. Nord J Psychiatry, 59, 217-21.

Van Den Hurk R, Zhao J, 2005. Formation of mammalian oocytes and their growth, differentiation and maturation within ovarian follicles. Theriogenology, 63, 1717–51.

Van Zweden BJ, Go AS, Surbrook T, 2018. Developing energy use and savings indices for Michigan dairy operations 2018 Detroit, Michigan July 29 - August 1.

Vanbaale M, Armstrong D, Etchebarne MA, Mattingly RM, Fiscalini J, 2005. Supplemental Light for Lactating Dairy Cows. The Professional Animal Scientist, 21, 521-3.

Vander Lely S, Frey S, Garbazza C, Wirz-Justice A, Jenni OG, Steiner R, Wolf S, Cajochen C, Bromundt V, Schmidt C, 2015. Blue blocker glasses as a countermeasure for alerting effects of evening light-emitting diode screen exposure in male teenagers. J Adolesc Health, 56, 1, 113-9.

Vandevoort CA, Mtango NR, Midic U, Latham KE, 2015. Disruptions in follicle cell functions in the ovaries of rhesus monkeys during summer. Physiol Genomics, 47, 102–112.

Vanecek J, 1998. Cellular Mechanisms of melatonin Action. Physiol Rev 78, 687–721.

Voiculescu SE, Zygouropoulos N, Zahiu CD, Zagrean AM, 2014. Role of melatonin in embryo fetal development. J Med Lif, 7, 488–92.

Wang SJ, Liu WJ, Wu CJ, Ma F H, Ahmad S, Liu B R, Han X. Jiang S. Zhang J, Yang LG, 2012. Melatonin suppresses apoptosis and stimulatesprogesterone production by bovine granulosa cells via its receptors, MT1 and MT2. Theriogenology, 78, 1517–26.

Wang Y, Guo W, Xu H, Tang K, Zan L, Yang W, 2019. Melatonin suppresses milk fat synthesis by inhibiting the mTOR signaling pathway via the MT1 receptor in bovine mammary epithelial cells. J Pineal Res, 67, 3, e12593.

Wang Y, Nan X, Zhao Y, 2021. Rumen microbiome structure and metabolites activity in dairy cows with clinical and subclinical mastitis. J Animal Sci Biotechnol, 12, 36.

Wickramasinghe HKJP, Kramer AJ, Appuhamy J, 2019. Drinking water intake of newborn dairy calves and its effects on feed intake, growth performance, health status, and nutrient digestibility. J Dairy Sci, 102, 1, 377-87.

Williams LR, Jackson EL, Bishop Hurley GJ, Swain DL, 2017. Drinking frequency effects on the performance of cattle: A systematic review. J Anim Physiol Anim Nutr (Berl), 101, 6, 1076-92.

Wu H, Yao S, Wang T, Wang J, Ren K, Yang H, Ma W, Ji P, Lu Y, Ma H, He C, Wei W, Zhang L, Liu G, 2021. Effects of melatonin on Dairy Herd Improvement (DHI) of Holstein Cow with High SCS. Molecules, 26, 4, 834.

Yang M, Shi J, Tian J, Tao J, Chai M, Wang J, Xu Z, Song Y, Zhu K, Ji P, Liu G, 2017. Exogenous melatonin reduces somatic cell count of milk in Holstein cows. Sci Rep, 7, 43280.

Yang Y, Jiang J, Wang Y, Liu K, Yu Y, Pan J, Ying Y, 2016. Light-emitting diode spectral sensitivity relationship with growth, feed Intake, meat, and manure characteristics in broilers. Transactions of the ASABE, 59, 1361-70

Yao S, Wu H, Ma H, Fu Y, Wei W, Wang T, Guan S, Yang H, Li X, Guo J, Lu Y, Zhang L, He C, Chang Y, Liu G, 2020. Effects of rumen bypass melatonin feeding, RBMFon milk quality and mastitis of Holstein cows. Peer J, 8, e9147.

Yu H, Dickson EJ, Jung SR, Koh DS, Hille B, 2016. High membrane permeability for melatonin. J Gen Physiol, 147, 1, 63-76.

Zhang L, Guo HL, Zhang HQ, Xu TQ, He B, Wang ZH, Yang YP, Tang XD, Zhang P, Liu FE, 2017. Melatonin prevents sleep deprivation-associated anxiety-like behavior in rats: role of oxidative stress and balance between GABAergic and glutamatergic transmission. Am J Transl Res, 9, 5, 2231-42.

Ek2. Tez yapım aşamalarından bazı fotoğraflar



Şekil 7.1. Araştırmaya alınan hayvanlar



Şekil 7. 2. Işık yalıtımı yapılmış ahır pencereleri



Şekil 7. 3. Kuyruk venasından kan alımı



Şekil 7. 4. Karanlık barınak ortamı



Şekil 7.5. Gündüz barınak görünümü



Şekil 7.6. Süt numunesi alınımı(sağ ön meme başından)



Şekil 7.7. Işık uygulaması



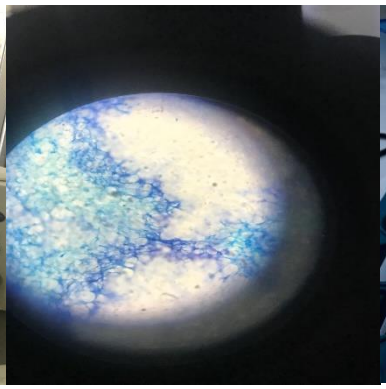
Şekil 7.8.Işık uygulaması



Şekil 7.9.Işık uygulaması



Şekil 7.10. SH Sayımı



Şekil 7.11. SH Sayımı



Şekil 7.12. Süt hazırlama



Şekil 7.13. . Serum hazırlama



Şekil 7. 14. Power LED 6040-F2525 A2



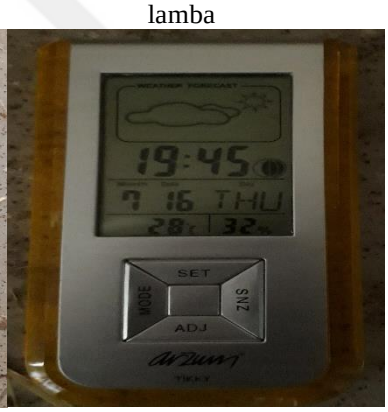
Şekil 7.15. Led armatürlü lamba



Şekil 7.16. Işık ölçüm cihazı (IL 1700 radiometre)



Şekil 7.17. Isı ölçümleri



Şekil7.18. Nem ölçer