

## İneklerin Kan Serumlarındaki Bazı Mineraller ile Embriyonik Ölüm Arasındaki İlişki

Atilla YILDIZ, Engin BALIKCI

Fırat Üniversitesi, Sivrice Meslek Yüksekokulu, Süt Hayvancılığı Programı, Sivrice-Elazığ

### ÖZET

*Bu çalışma ineklerin kan serumlarındaki bazı mineral maddeler (Ca, Cu, Zn, Mg ve K) ile embriyonik ölüm arasındaki ilişkilerin ortaya konulması amacıyla yapıldı. Materyal olarak, 3-8 yaşlarında toplam 45 adet montefon ırkı inek kullanıldı. Kan örnekleri tohumlamayı izleyen 7 ve 21. günlerde alındı. Çalışmada kullanılan hayvanların gebelik durumları, tohumlamayı izleyen 7 ve 21. günde EPF aktivitesiyle teşhis edilerek; hayvanlar gebe, gebe olmayanlar ve embriyonik ölüm grupları olmak üzere, 3 gruba ayrıldı. Bu hayvanlardan tohumlamayı müteakip 7 ve 21. günlerde alınan serum örneklerinde EPF aktivitesi Rozet İnhibisyon Testi (RIT) ile, serum Ca, Cu, Zn, Mg ve K miktarları ise atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile analiz edildi. İstatistiksel olarak; gebe grubun serum Ca düzeyi ortalamaları, gebe olmayan ve embriyonik ölüm grupları ortalamalarından daha düşük ( $P<0,05$ ) saptandı. Gebe grubunun serum Cu düzeyi ortalamaları, gebe olmayan ve embriyonik ölüm grupların ortalamalarından istatistiki olarak ( $P<0,01$ ) daha yüksek saptandı. Embriyonik ölüm grubunun serum Zn düzeyi ortalamaları, gebe olan ve gebe olmayan grupların ortalamasından istatistiki olarak ( $P<0,001$ ) daha düşük bulundu. Gruplar arasında serum Mg ve K düzeyleri açısından istatistiki olarak önemli bir fark saptanmadı. Sonuç olarak, serum Zn ve Cu düzeylerindeki azalmanın, embriyonik ölümün nedenlerinden biri olabileceği kanısına varıldı.*

**Anahtar Kelimeler:** İnek, embriyonik ölüm, mineral.

### Association between Some Mineral and Embryonic Mortality in The Sera of Cows

### SUMMARY

*In this study, it was investigated to be determined of the association between some mineral (Ca, Cu, Zn, Mg and K) and embryonic mortality in the sera of cows. 45 Brown Swiss cows ageing between 3-8 were employed as subjects. Blood samples were collected on the days 7 and 21 following insemination from the animals. Pregnancies of inseminated animals were controlled by EPF on the days 7 and 21. According to this, cows were assigned into three groups as nonpregnant, pregnant and embryonic mortality. In serum samples, serum EPF activity and micromineral concentrations were determined by Rosette Inhibition Test (RIT) and by Atomic Absorption Spectrophotometer, respectively. The mean of serum Ca level was found significantly lower ( $P<0.05$ ) in pregnant group than in nonpregnant and embryonic mortality groups. The mean of serum Cu level was determined significantly higher ( $P<0.01$ ) in pregnant group than in nonpregnant and embryonic mortality groups. The mean of serum Zn level was found significantly lower ( $P<0.001$ ) in embryonic mortality group than in pregnant and nonpregnant groups. It was not determined significantly a difference among groups for serum Mg and K levels. It was concluded that a decrease of serum Zn and Cu levels might be a cause of embryonic mortality*

**Key Words:** Cow, embryonic mortality, mineral.

### GİRİŞ

İneklerde reproduktif etkinliğin artırılmasında rasyon orjinli infertilite etmenlerinin belirlenmesine yönelik yoğun araştırmalar yapılmıştır (7,13,14,16,23).

Mineral maddelerden birinin veya birkaçının yetersizliği ve dengesizliği ile gebeliğin olumsuz yönde etkilenebileceği bildirilmiştir (13,19). İneklerde embriyonik ölümün makromineralere (Ca, P, Mg, K, Na ve Cl) kıyasla, mikromineralerin (özellikle Cu, Zn ve Se) yetersizliğinden meydana geldiği ifade edilmiştir (12,13,16).

Bakır ve Zn evcil hayvanların üreme fonksiyonlarının normal işlemesi için gerekli en önemli esansiyel minerallerdendir. Bu minerallerin yetersizliğinde, fertilité oranında azalma, ovulasyon bozukluğu, fertilizasyonda düşüş, fetal gelişme bozukluğu, embriyonik ölüm, endokrin bezlerin fonksiyon yetersizliği, östrüs siklusunun farklı safhalarının baskılanması, suböstrüs, anöstrüs, distosiya, doğum esnasında aşırı kanama ve retensiyon sekondaryum gibi belirtiler görülebileceği bildirilmiştir

(9,13,15,19,21,31). Düşük Zn içeren rasyonla beslenen sığırlarda embriyonik ölüm oranı yüksek bulunmuştur (4,25). Zn, Cu ve Mn'in yeterli oranda rasyona ilave edilmesinin, fertilizasyon ve embriyonun yaşama şansının artırılmasında önemli rol oynadığı kaydedilmiştir (5). Unanian ve ark (28) tarafından yapılan bir çalışmada, gebeliğin 60. gününde yavru atan 59 keçinin kan serumlarında Mg, Cu, Mn, I ve P düzeyleri düşük olduğu bildirilmiştir. Serumda Ca fazlalığı ile Cu ve P yetersizliğinin gebelik oranının düşmesinin bir delili olabileceği ifade edilmiştir (23). Cu ve Mg'un tek başına yemlere ilavesinin döl tutma üzerine etkisinin olmadığı, ancak her ikisinin birlikte verilmesinin döl tutmayı arttırdığı bildirilmiştir (14). Gebe ve gebe olmayan gruplar arasında serum Mg ve K düzeylerinde önemli farklılıklar bulunmadığı, bununla birlikte, serum Ca konsantrasyonundaki yükselmenin, gebe kalma oranını arttırdığı ifade edilmiştir (22).

Bu çalışmada, ineklerin serumlarındaki bazı mineral maddeler (Ca, Cu, Zn, Mg ve K) ile embriyonik ölüm arasında bir ilişkinin olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

Bu çalışmada, küçük aile işletmelerinden sağlanan, genellikle saman, fenni yem ve küspeden oluşan rasyonla beslenen, postpartum herhangi bir sorunu bulunmayan, daha önce tohumlanmamış, yaşları 3-8 yaş arasında değişen toplam 45 adet montofon ırkı inek materyal olarak kullanıldı.

Materyal olarak kullanılan inekler Aralık ile Mart ayları arasında, postpartum 50-60. günlerde saptanan kızgınlıkta 1 defa suni olarak tohumlandılar. Hayvanlardan, tohumlamayı müteakip 7 ve 21. günlerde Vena jugularisten steril kan alma tüpleri ile 10 ml kan örnekleri alındı. Alınan kanların metoduna uygun olarak serumları çıkarıldıktan sonra, EPF (Early Pregnancy Factor) ve bazı minerallerin analizinde kullanılmak üzere iki ayrı serum saklama tüplerine aktarıldı. Daha sonra EPF analizinde kullanılacak serumlar 30 dak. süreyle etüvde 56 °C'de inaktive edildi. Her iki serum örneği analiz işlemine kadar -20 °C'de saklandı.

### EPF'nin ölçülmesi

Serum örneklerinde EPF'nin varlığı Rozet İnhibisyon Testi (RIT) ile araştırıldı. Yıldız (30), tarafından detaylı olarak tarif edilen antilenfosit serum, lenfosit süspansiyonu, kobay serumu, koyun eritrositlerinin hazırlanması ve RIT metodu kullanıldı.

### Minerallerin ölçülmesi

Serum Cu, Zn, Ca, K ve Mg düzeyleri atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile yöntemlerine uygun olarak ölçüldü (2).

### Veri analizi

Tohumlamadan sonra 7. gündeki serum EPF'sine ait RIT'leri 5 ve 5'in üzerinde olan inekler gebe, 5'in altında olanlar ise gebe olmayan grup olarak kabul edildi. Yedinci gündeki EPF aktivitesine ait titre 5 ve 5'in üzerindeyken, 21. gündeki titre 5'in altına indiğinde aradaki fark embriyonik ölüm olarak değerlendirildi. Buna göre inekler gebe, gebe olmayan ve embriyonik ölüm olmak üzere 3 gruba (n=15) ayrıldı. Veriler ortalama ve ortalamanın standart hatası olarak hesaplandı. Veriler varyans analizinin One-way (ANOVA) metodu kullanılarak analiz edildi (26).

## BULGULAR

Gebe, gebe olmayan ve embriyonik ölüm gruplarında bulunan ineklerin tohumlamadan sonraki 21. günde kan serumlarındaki Cu, Zn, Ca, Mg ve K düzeylerinin ortalamaları ve gruplar arasındaki istatistiksel önemlilikleri Tablo 1'de gösterildi.

Gebe grubunun serum Ca düzeyi ortalamaları, gebe olmayan ve erken embriyonik grupların ortalamasından istatistiki olarak (P<0,05) daha düşük bulundu. Gebe grubunun serum Cu düzeyi ortalamalarının, gebe olmayan ve erken embriyonik grupların ortalamasından istatistiki olarak (P<0,01) daha yüksek olduğu saptandı. Gebe ve gebe olmayan gruplardaki serum Zn düzeyi ortalamalarının, embriyonik ölüm grubunun ortalamasından istatistiki olarak

(P<0,001) daha yüksek bulundu. Gruplar arasında serum Mg ve K düzeyleri açısından istatistiki olarak önemli bir fark saptanmadı.

Tablo 1: Gebe, gebe olmayan ve embriyonik ölüm gruplarındaki ineklerin tohumlamadan sonraki 21. günde kan serumu Ca, Cu, Zn, Mg ve K düzeylerinin ortalamaları (n=15).

Parametre	Gebe olmayan X ± Sx	Gebe X ± Sx	Embriyonik Ölüm X ± Sx	F değeri
Ca (mmol/L)	2,29 ± 0,01a	2,20 ± 0,04b	2,32 ± 0,03a	4,065 +
Cu (µmol/L)	9,46 ± 0,08b	9,68 ± 0,65a	9,08 ± 0,11c	9,520 ++
Zn (µmol/L)	13,57 ± 0,19a	13,82 ± 0,44a	12,00 ± 0,24b	17,015 +++
Mg (mmol/L)	1,21 ± 0,03	1,20 ± 0,03	1,18 ± 0,02	1,420 -
K (mmol/L)	3,80 ± 0,088	3,81 ± 1,078	3,78 ± 0,065	1,023 -

-: P>0,05; +: P<0,05; ++: P<0,01; +++: P<0,001.

Aynı satırdaki değişik harf taşıyan değerler birbirinden farklı bulunmuştur (P<0,05).

## TARTIŞMA ve SONUÇ

İneklerin normal fizyolojik serum Ca, Cu, Zn, Mg ve K düzeyleri, sırasıyla 2-3 mmol/L, 11-25,6 µmol/L, 10,7-20 µmol/L, 0,65-1,23 mmol/L, 3,6-5,6 mmol/L arasında olduğu rapor edilmiştir (1). Rasyonda bulunması gereken Cu, Zn, Ca, Mg ve K miktarlarının, sırasıyla 10 ppm, 40 ppm, % 0,48, % 0,20, % 0,80 olması gerektiği bildirilmiştir (27).

Gebelikte plazma Zn düzeylerinin doğuma kadar sabit kaldığı bildirilirken (9), Kalkan (15) ise gebelik esnasında Zn düzeyinin değişken olduğunu ileri sürmüştür. İneklerin fertilité sorunlarının sebeplerinden mineral madde yetmezliği pratikte çoğunlukla göz ardı edilmektedir. Oysa birçok mineral madde (Cu, Co, Se, Mn, I, Fe, Zn gibi) ruminantlarda reproduktif performansı etkilemektedir (11,13). Erken gebelikte Zn ve Cu düzeylerinin önemli roller oynadığı kabul edilmektedir. Birçok araştırmacı (6,15,20,24) tohumlamayı takiben 21. günde gebe hayvanların gebe olmayan hayvanlara göre Zn ve Cu düzeylerinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Anöstrüs ve repeat breeder'li inek ve düvelere 20 gün süreyle Zn ve Cu verildiğinde gebelik oranının % 51 oranında arttığı saptanmıştır (17). El-Azab ve ark. (7) döl tutmama sendromlu ineklerde Cu, Zn ve Mn düzeylerinin önemli oranda daha düşük olduğunu bildirmiştir. Bazı araştırmacılar (11,12,29) abort yapan ineklerin plazma Zn düzeylerinin abort yapmayanlara göre daha düşük olduğunu saptamışlardır. Bu çalışma, yukarıda anılan araştırmacıların gebelerde Zn düzeylerinin yüksek olduğu fikri ile uyum göstermekte ve embriyonik ölümle Zn arasında bir ilişki olduğunu desteklemektedir. Bazı araştırmacılar da (11,25) düşük Zn içeren rasyonla beslenen sığırlarda, zigotun uterusu implante olamaması sonucu, embriyonik ölümlerin gözlemlendiğini belirtmişlerdir. Ayrıca, ineklerde düşük Zn düzeyinin PGF2α salınımının artmasına sebep olduğu, buna bağlı

olarak da abort olduğu kaydedilmiştir (10,12). Bu çalışmada embriyonik ölüm grubunda saptanan düşük Zn düzeyi de bu görüşleri desteklemektedir. Graham ve ark. (12) ile Bosted ve ark. (3) gebe ve gebe olmayan hayvanların Cu düzeyleri arasında önemli bir farkın olmadığını rapor etmişlerdir. Buna karşın Cu yetersizliğinde embriyonik ölümler olduğu bildirilmiştir (13,19). Gebeliğin başında Cu düzeyinin 55,6 mg/100ml'den 99,7 mg/100ml'ye yükseldiği saptanmıştır (8). Kalkan ve ark. (15) ise, gebe olmayan hayvanlarda, 4. ve 5. günlerde ölçülen Cu düzeylerini, gebe olan ve 1. günde ölçülen Cu düzeylerine göre önemli ölçüde yüksek bulmuşlardır. Düzenli döl verimine sahip ineklerin serumlarında, Cu ve Zn düzeylerinin, döl tutma problemi olanlara göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir (21). Bu çalışmada embriyonik ölüm grubunda saptanan düşük serum Cu düzeyi, bazı araştırmacıların (3,12) sonuçları ile uyum göstermezken, bazı araştırmacıların (6,7,15,20,24) bulgularını desteklemektedir. Reissauer (22) artan serum Ca konsantrasyonunun sürüdeki gebelik oranını arttırdığını bildirirken, Saba (23) Ca fazlalığının gebelik oranında düşüşün bir göstergesi olabileceğini belirtmiştir. Araştırmamızda elde ettiğimiz bulgular, Saba'nın (23) bulgularını destekler niteliktedir. Gebe ve gebe olmayan ineklerin serumlarında Mg, K ve P düzeylerinde önemli farklılıkların bulunmadığı ve anılan mineral düzeylerinin gebe kalma oranı üzerine bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir (22). Buna benzer olarak, çalışmamızda da gebe ve gebe olmayan ineklerin serum Mg ve K düzeyleri arasında istatistiki olarak önemli bir fark bulunmamıştır. Bununla birlikte, serum Mg düzeyi embriyonik ölüm grubunda düşük bulunmuştur. Çalışmada elde edilen bu bulgular, Unian ve ark. (28) tarafından belirtilen verilerle uyum içerisinde olduğu görülmüştür.

Bu çalışmada embriyonik ölüm grubundaki ineklerin kan serum Zn ve Cu düzeylerinde azalış ve Ca düzeyinde artış saptanmıştır. Bu sonuçlar, serum Zn ve Cu düzeylerindeki azalma ile Ca düzeyindeki artmanın embriyonik ölüme neden olabileceği görüşünü desteklemektedir. Bu nedenle, döl tutmama veya embriyonik ölüm problemleri hayvanlarda kan serum örneklerinin anılan minerallere yönelik olarak değerlendirilmesinin, faydalı olabileceği ve eksikliği saptanan minerallerin rasyona yeterli oranda ve dengeli bir şekilde katılmasının uygun olacağı kanaatine varılmıştır

#### KAYNAKLAR

1. Altıntaş A, Fidancı UR, (1993): Evcil Hayvanlarda ve İnsanlarda Kanın Biyokimyasal Normal Değerleri. AÜ Vet Fak Derg. 40, 173-186.  
 2. Bauer MD, Ackermann PG, Toro G, (1974): Clinical Laboratory Methods. Mosby Company. P. Saint Louis. 421-422.  
 3. Bostedt H, Wagensil F, Grahammer M, (1974): Studies on the Iron and Copper Content and the Erythrocyte Picture in the Blood of Cows during Pregnancy

and the Puerperal Period. Zuchthygiene. 9, 49-57.

4. Clark CK, Anesotegui RP, Paterson JA, (1995): The relationship between feeding mineral nutrition of the beef cows and reproductive performance. The Bovine Practitioner. 29, 38-42.

5. Doyle JC, Huston JE, Thompson PV, (1990): Influence of mineral supplementation on bovine serum, liver and endometrium at day 1 and day 12 of the oestrus cycle. Theriogenology. 34, 21-31.

6. Dufty JH, Bingley JB, Cove LY, (1977): The Plasma Zinc Concentration of Non-pregnant, Pregnant and Parturient Hereford Cattle. Australian Vet. J. 53, 519.

7. El-Azab MA, Badr A, Shawki K, El-Meged SA, Abd-El-Meged SS, (1993): Some Microelements Profile in Cyclic Non-breeding Cow Syndrome. Assiut Vet. Med. J. 29, 58: 245-253.

8. Eltohamy MM, Salama A, Yousef AEA, (1986): Blood Constituents in Relation to the Reproductive State in She Camel (Camelus dromedarius). Beitrage zur Tropischen Landwirtschaft und Veterinarmedizin. 24, 425-430.

9. Erkal N, (1984): Samsun yöresi sığırlarının kan serumunda bakır ve çinko düzeyleri üzerinde araştırma. Doğa Bilim Derg. 8, 2: 101-115.

10. Giri SN, Stabenfeldt GH, Moseley TA, Graham TW, Bruss ML, BonDurant RH, Cullor JS, Osburn BI, (1991): Role of eicosanoids in abortion and its prevention by treatment with flunixin meglumine in cows during their first trimester of pregnancy. J. Vet. Med. 38, 445-459.

11. Graham TW, Giri SN, Daels PF, (1995): Associations among Prostaglandins F<sub>2</sub> alfa, Plasma Zinc, Copper and Iron Concentrations and Foetal Loss in Cows and Mares. Theriogenology. 44, 397-390.

12. Graham TW, Thurmond MC, Greshwin ME, Picanso JP, Garvey JS, Keen CL, (1994): Serum zinc and copper concentrations in relation to spontaneous abortion in cows: implications for human fetal loss. J. Reprod. Fert. 102, 253-262.

13. Hidroglou M, (1979): Trace Element Deficiencies and Fertility in Ruminants: A Review. J. Dairy Sci. 62, 1195-1206.

14. Ingraham RH, Kappel LC, Morgan EB, Srikandakumar A, (1987): Correction of Subnormal Fertility with Copper and Magnesium Supplementation. J. Dairy Sci. 70, 167-180.

15. Kalkan C, Yılmaz B, Türköz Y, Kaygusuzoğlu E, Çetin H, Devenci H, Apaydın AM, Öcal H, (1999): Evaluation of Serum and Plasma Zn and Cu Concentrations with Respect to Pregnancy During 21 Days Following Insemination in Cows. F.Ü. Sağlık Bil. Derg. 13, 3: 367-372.

16. Maas J, (1987): Relationship between Nutrition and Reproduction in Beef Cattle. Vet. Clin. North Am Food Anim. Pract. 3, 3: 633-646.

17. Madhavan E, Iyer CPN, (1993): Treatment of anoestrus in crossbred cattle with CoCu-H. Indian J. Anim. Reprod., 14, 125-132.

18. Manickam R, Gopalakrishnan CA,

**Ramanathan G, Mookkappan M, Nagarajan R, (1977):** Studies on the Relationships between Trace Elements and Fertility in Cows. Indian J. Anim. Res. 11, 23.

**19. McChowell J, (1968):** The Effect of Experimental Copper Deficiency on Growth, Reproduction and Haemopoiesis in the Sheep. Vet. Rec. 83, 226.

**20. Mehta SN, Gangwar PC, (1984):** Seasonal Variation in Plasma Trace Minerals of Lactating Buffaloes. Indian J Anim Sci. 54, 1035-1036.

**21. Nedyjlkov K, Krustev E, (1969):** The application of Zinc in the Control of Cow Sterility. Vet. Med. Nauk. 6, 79.

**22. Reissbauer K, (1971):** Clinico-chemical Studies Concerning the Problem of Bovine Reproductive Disorders. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift. 78, 19: 512-516.

**23. Saba L, Bialkowski Z, Wojcik S, (1987):** Evaluation of Mineral Nutrition of Milk Cows in the Period between Pregnancies. Pol. Arch. Weter. 25, 2-3: 237-246.

**24. Singh R, Singha SPS, Singh R, Setia MS, (1991):** Distribution of Trace Elements in Blood, Plasma

and Erythrocytes during Different Stages of Gestation in Buffalo (B. bubalis). Buffalo J. 7, 77-85.

**25. Sokolovskaya J, (1966):** Scientific Achievements and Noteworthy Experience in the Artificial Insemination of Livestock. All-Union Seminar. Urozhai Kiev..

**26. SPSS, (1999):** *Statistical Package for Social Sciences for Windows*, SPSS Inc; Chicago IL.

**27. Şenel S, (1986):** Hayvan Besleme. İÜ Vet Fak Yay. 1. Baskı. İstanbul. 346-347.

**28. Unanian MDS, Silva AEDF, (1984):** Trace elements deficiency: association with early abortion in goats. International Goat and Sheep Research. 2, 129-134.

**29. Unanian MM, Silva AEDF, (1989):** Studies Associating Malnutrition with Abortion in Goats in the North-Eastern Region of Brazil. Pesquisa Agropecuaria Brasileira. 24, 1221-1228.

**30. Yıldız A, (1999):** İneklede Erken Gebelik Faktörünün ( EGF ) Tespitiyle Gebeliğin Teşhisi. Doktora Tezi. F.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Elazığ.

**31. Yılmaz K, (1986):** Köy koşullarında yerli ve melez sığırların bazı kan özellikleri üzerinde araştırmalar. A.Ü. Vet. Fak. Derg. 33, 1: 76-89.