

İNEKLERDE TOHURLAMA SONRASI 21 GÜN BOYUNCA KAN SERUMU VE PLAZMASI ÇİNKO (Zn) DÜZEYLERİNİN GEBELİK BAKIMINDAN KARŞILAŞTIRILMASI

**Cahit KALKAN¹, Yusuf TÜRKÖZ², Erdal KAYGUSUZUOĞLU¹
Hayrettin ÇETİN¹, Hüseyin DEVECİ¹, Ali Mükremin APAYDIN¹, Halis ÖCAL¹**

¹Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Elazığ.
²İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Malatya.

ÖZET

Bu çalışmada, ineklerde tohumlama sonrası 21 gün boyunca kan serumu ve plazması çinko düzeyleri bakımından, erken gebelik döneminde, gebelerle gebe kalamayanlar arasında bir ilişkinin olup olmadığını araştırma amaçlanmıştır.

Çalışma, Fırat Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Çiftliği'nde bulunan inekler üzerinde yapıldı. Serum için 5 gebe, 5 gebe olmayan; plazma için de 5 gebe, 5 gebe olmayan olmak üzere toplam 20 inek kullanıldı. Hayvanlar; Esmer ırkı ve 3-5 yaşları arasında idi. Araştırmaya alınan inekler içeride, bir örnek şekilde beslendi. Tüm ineklere kaba yeme ilave olarak, Elazığ Yem Fabrikası'nın ürettiği süt yemi verildi.

İneklerden, tohumlama günü başlanarak, 21 gün boyunca haftada 3 kez olmak üzere, vena jugularisten her defasında 10 cc kan alınarak, santrifüjde 4 °C'de 3000 devirde 20 dk'da plazma veya serumu çıkarıldı. Santrifüj sonrası plazma ve serumlar küçük tüplere aktararak analiz edilene kadar derin dondurucuda -20 °C'de depolandı. Çinko düzeyi atomik absorpsiyon cihazı ile, progesteron (P₄) düzeyi ise RIA ile tayin edildi.

Kan serumu çinko değerlerinin 0.33±0.13 ile 0.75±0.14 mg/l, kan plazması çinko değerlerini ise 0.72±0.15 ile 1.23±0.17 mg/l arasında değiştiği ve plazmanın, daima serumdan daha yüksek oranda çinko bulundurduğu tespit edildi. Gebe kalan ve kalamayan hayvanların kan serumu Zn seviyeleri, aynı günler arasında karşılaştırıldığında 4. (P<0.025) günler dışında fark önemli bulunmadı. Plazmada ise gebe kalanlarla gebe kalamayanların Zn seviyeleri aynı günler arasında 9 (P<0.025), 18 (P<0.05) ve 21. (P<0.005) günlerde farkın önemli olduğu görüldü. Gebe kalanlarda kan serumu Zn değerleri düzensiz olarak seyrederken plazma Zn değerinde 18 ve 21. günler önemli artışlar tespit edildi. 21 gün boyunca alınan örneklerin toplam Zn değerleri, serumu incelenenlerde gebe kalanlarla kalamayanlar arasındaki fark önemli bulunmazken, kan plazmasında farkın önemli (P<0.05) olduğu görüldü. Kan serumu Zn değerleri gebe kalanlarla kalamayanlar arasında pozitif yönlü bir ilişki, plazmada negatif bir ilişki bulundu. Progesteronun Zn ile ilişkileri, gerek plazma ve gerekse serumda gebe kalanlarda pozitif, gebe kalamayanlarda negatif olarak tespit edildi.

Sonuç olarak; Zn gebeliğin ilk döneminde, gebe olmayanların aynı günlerine göre daha yüksek olduğu ve gebeliğin erken safhasında önemli rol oynayabileceği, ineklerde Zn düzeylerinin izlenmesi ve tespitinde kan serumu yerine kan plazmasının tercih edilmesi daha sağlıklı sonuçlar vereceği kanaatine varıldı.

A COMPARISON OF PLASMA AND SERUM ZINC LEVELS IN EARLY PREGNANCY 21 DAYS AFTER INSEMINATION IN COWS

ABSTRACT

The aim of the current study was to measure the plasma and serum zinc levels during 21 days after insemination in order to determine the presence of any relationships between pregnant and non-pregnant cows.

This study was conducted at the Research and Practicing Farm of the University of Fırat on a total of 20 Swiss Brown cows between the ages of 3-5 years. Equal number of pregnant and non-pregnant cows were used for serum and plasma extraction. All cows were fed with a ration containing hay and concentrated feed produced at Elazığ Feed Factory.

10 cc blood at each time for three times a week. and was taken from the jugular vein of each cow during 21 days after insemination. These blood samples were centrifuged at 4 °C for 20 minutes using a 3000 round/minute devise and serum and plasma were collected in small glass bottles and

stored at -20°C until required. The analyses of the zinc and progesterone (P_4) were made using atomic absorption unit and RIA, respectively.

The serum Zn level ranged from 0.33 ± 0.13 to 0.75 ± 0.14 mg/l and the plasma Zn level from 0.72 ± 0.15 to 1.23 ± 0.17 mg/l. The plasma Zn level was always found to be higher than the serum zinc level. When serum Zn levels of the pregnant and non-pregnant cows were compared, no significant difference on the same days was obtained except the 4th day. However, the differences between the plasma Zn levels of the pregnant and non-pregnant cows were observed to be significant for the 9th ($P<0.025$), 18th ($P<0.05$) and 21st ($P<0.005$) days. While the blood serum Zn levels of the pregnant cows showed great fluctuations, the plasma Zn levels increased significantly on the 18th and 21st days. The difference between the total serum Zn values of the blood samples collected during 21 days from pregnant and non-pregnant cows was found to be non-significant, but difference between the total plasma Zn values of the samples collected for the same period from other pregnant and non-pregnant cows was significant ($P<0.05$). A positive correlation between the blood serum Zn values of the pregnant and non-pregnant cows, but a negative correlation between the plasma Zn values of the same animals were obtained. There was also a positive correlation between progesterone and Zn levels in both blood serum and plasma of the pregnant cows, but negative correlation in those of the non-pregnant cows.

As a result, it was found that zinc level was higher in early period of the pregnant cows than non-pregnant ones, which indicates that zinc has an important role in the early period of the pregnancy in cows. Finally, it is suggested that the blood plasma rather than the blood serum should be used when monitoring or examining the zinc level in the cow was considered.

GİRİŞ

Çinko, evcil hayvanların üreme faaliyetlerini devam ettirebilmesi için gerekli olan önemli bir iz elementtir. Eksikliğinde dişilerde üremeyle ilgili olarak; fertilitenin azalması, ovulasyon bozukluğu, fertilizasyon başarısızlığı, fütüste gelişme bozuklukları, embriyonik ölümler, endokrin bezlerin fonksiyonunda bozulma, östrüs siklusunun tüm safhalarının depresyona uğraması, sakin kızgınlık, anöstrüs, abortus, doğum sırasında aşırı kanama, retensiyo sekundinarum gibi bozukluklar görülür (Gülen ve Ozan, 1996; Sarı ve Çerçi, 1993; Kılıç, 1985; Lavin Gonzalez ve ark., 1988; Vrzgula, 1991; Unanian ve Silva, 1989; Doyle ve ark., 1990; Graham ve ark., 1995; Eltohamy, 1987; Mills, 1987; Saxena ve Gupta, 1992; Abdelrahman ve Kincaid, 1993; Bires ve ark., 1993).

Çeşitli hayvan türlerinde gebelik öncesi ve gebeliğin çeşitli aylarındaki çinko seviyelerinin incelendiği birçok çalışma yapılmış ancak ineklerde gebeliğin erken dönemlerindeki çinkonun seviyeleri üzerine yapılan çalışmalar sınırlıdır. Dufty ve ark., 1977, inek ve düveler üzerinde yaptıkları çalışmada; gebelik öncesi dalgalanma gösteren çinkonun gebeliğin şekillenmesiyle sabit kaldığını bildirmektedirler. Buffalolar üzerinde yapılan bir çalışmada, çinko düzeyinin yılın tüm mevsimlerinde gebelerde, gebe olmayanlardan daha yüksek bulunduğu bildirilmiştir (Mehta ve Gangwar, 1984).

Yapılan bir başka çalışmada (Madhavan ve Iyer, 1993), anöstrüs gösteren düve ve inekler 20 gün boyunca aralarında Zn'nun da bulunduğu birkaç iz element içeren tabletlerle tedavi edilmiş ve düvelerin % 72.5'i, ineklerin % 81.25'i östrüse gelmiş ve her iki grupta da % 51 gebelik oranı bulunmuştur. Yunanistan'da repeat breeder inekler üzerinde yapılan benzer bir çalışmada (Seitaridis, 1977), 5.5 mg/kg dozda çinko sülfat 21 gün yedirilmiş ve aynı şekilde % 51 gebelik elde edilmiştir. Ayrıca inek, kısrak ve koyunlar üzerinde yapılan çalışmalarda (Graham ve ark., 1995; Unanian ve Silva, 1989), birçok abortusun sebebi olarak Zn ve Cu eksikliği bildirilmiştir. Graham ve ark., 1995, yaptıkları bir çalışmada, çinkonun fetal kayıpları tahminde bilgi verebileceği de bildirilmektedir. Benzer şekilde Doyle ve ark., 1990, ise

Cu, Mn ve Zn'nun fertilizasyon ve embriyo canlılığında önemli rol oynadığını bildirmektedirler.

Bu çalışmada; ineklerde tohumlama sonrası 21 gün boyunca Zn'nun kan serumu ve plazması değerlerinin gebe kalanlar ile kalamayanlarda tayin edilerek gebe kalmayla bir ilişkinin olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOD

Çalışma, Fırat Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Çiftliği'nde bulunan inekler üzerinde yapıldı. Serum Zn düzeylerini belirlemek için 5 gebe, 5 gebe kalamamış, plazma Zn düzeylerini belirlemek için de 5 gebe, 5 gebe kalamamış olmak üzere toplam 20 inek kullanıldı. Hayvanlar; Esmer ırkı ve 3-5 yaşları arasında idi. Araştırmaya alınan inekler, içeride bir örnek halinde beslendi. Tüm ineklere kaba yeme ilave konsantre yem olarak Elazığ Yem Fabrikası'nın ürettiği süt yemi verildi.

İneklerden tohumlama günü başlanarak, 21 gün boyunca haftada 3 kez olmak üzere vena jugularisten her defasında 10 cc kan; plazma için alınacaksa heparinize tüplere, serumu için de antikoagulan madde içermeyen tüplere alındı. Örnekler uygun şartlarda en kısa zamanda laboratuvara ulaştırıldı. Plazma için alınan kanlar derhal 4 °C'de 3000 devir/dk'da 20 dk süreyle santrifüje edildi. Serum çıkarılmak istenenler de önce pıhtılaşması için oda ısısında 1 saat bekletildi. Daha sonra çizilerek serum vermesi için 2 saat bekletildi. Tüpün üst kısmında biriken serum bir başka tüpe aktarılarak plazmada olduğu gibi santrifüje edildi. Santrifüj sonrası plazma ve serumlar küçük tüplere aktarılarak analiz edilene kadar derin dondurucuda -20 °C'de depolandı. Çinko tayini atomik absorpsiyon cihazı ile yapıldı (Saxena ve Gupta,1992). Progesteron (P₄) düzeyi ise RIA ile Coated Tüp Metodu (Coat-A-Count[®], Diagnostic Products Corporation, DPC, U.S.A) kullanılarak tayin edildi (Abraham, 1981; Kubasik ve ark., 1984).

Gebeliğin erken teşhisi ve birçok reproduktif olayların izlenmesinde progesteron, önemli bir hormondur (Alaçam, 1994). Gebelikler; 21. günde progesteron değerlerinin >1 ng/ml gebe, <1 ng/ml gebe değil kabul edildi ve bu bilgiler tohumlamadan 2 ay sonra yapılan rektal palpasyonla doğrulandı.

İstatistiki hesaplamalar, Apple Macintosh bilgisayar, StatView 512⁺™ programı (Feldman ve Gagnon, 1988) ile yapıldı.

SONUÇLAR

Tohumlama sonrası 21 gün boyunca gebe kalanlarla gebe kalamayanların serum ve plazma çinko değerleri ve bunların kendi içinde günler arasında farklarının (t değeri) önemli olanları Tablo 1, 2 ve 3'de verilmiştir. Yirmibir gün boyunca alınan örneklerin toplam çinko değerleri serumu incelenenlerde gebe kalanlarla kalamayanlar arasındaki fark önemli bulunmazken (Tablo 1), kan plazmasında farkın önemli (P<0.05) olduğu görüldü (Tablo 2).

Gebe kalan ve kalamayan hayvanların kan serumu Zn seviyeleri, aynı günleri arasında karşılaştırıldığında 4.günler (P<0.025) dışında fark önemli bulunmadı (Şekil 1). Plazmada ise gebe kalanlarla gebe kalamayanların Zn seviyeleri aynı günler arasında; 9 (P<0.025), 18 (P<0.05) ve 21. (P<0.005) günlerde farkın önemli olduğu görüldü (Şekil 2).

Kan serumu çinko değerlerinde, gebe kalanlarla kalamayanlar arasında pozitif yönlü bir korelasyon (Şekil 3), plazmada negatif korelasyon bulundu (Şekil 4). Progesteron ile ilişkileri ise Şekil 5, 6, 7 ve 8'de verilmiştir.

Tablo 1. Tohumlama sonrası kan serumu çinko ve progesteron değerleri (n=5)

Toh. Sonrası günler	Serum gebe(-) Zn	V	%CV	Serum gebe(+) Zn	V	%CV	Serum proges. geb(-)	Serum proges. geb(+)
1	0.75±0.14 ^a	0.09	40.57	0.45±0.11 ^{a,b}	0.06	55.75	0.37±0.13	0.16±0.04
4	0.50±0.10 ^b	0.05	45.52	0.33±0.10 ^a	0.05	65.65	0.41±0.14	0.22±0.58
6	0.50±0.13	0.08	58.05	0.50±0.14	0.09	61.61	0.99±0.57	0.66±0.14
8	0.60±0.20 ^c	0.19	73.95	0.49±0.09 ^b	0.04	39.86	1.93±0.57	1.58±0.45
10	0.48±0.12	0.07	53.43	0.39±0.09 ^d	0.04	53.41	3.02±1.24	2.18±0.74
12	0.54±0.13 ^d	0.08	53.06	0.48±0.12	0.08	58.32	3.46±0.98	2.37±0.45
14	0.48±0.13	0.08	59.27	0.57±0.25	0.32	98.11	5.05±1.27	2.72±0.64
16	0.33±0.13 ^e	0.09	88.68	0.37±0.07	0.22	40.41	4.24±1.29	4.57±1.62
18	0.56±0.12 ^{a,f}	0.07	47.50	0.57±0.16 ^d	0.13	62.93	2.59±0.96	4.52±1.13
21	0.73±0.15	0.12	46.73	0.68±0.21	0.21	67.91	0.54±0.12	2.51±0.67
t değeri		P>0.05						

CV: Coefficient varyasyon yüzdesi V: Varyasyon katsayısı t: t değeri probabilites

Grup içinde aynı harfle gösterilen günlerin birbiriyle farkı (t değeri); a,b,c,e,f: P<0.05 d: P<0.005

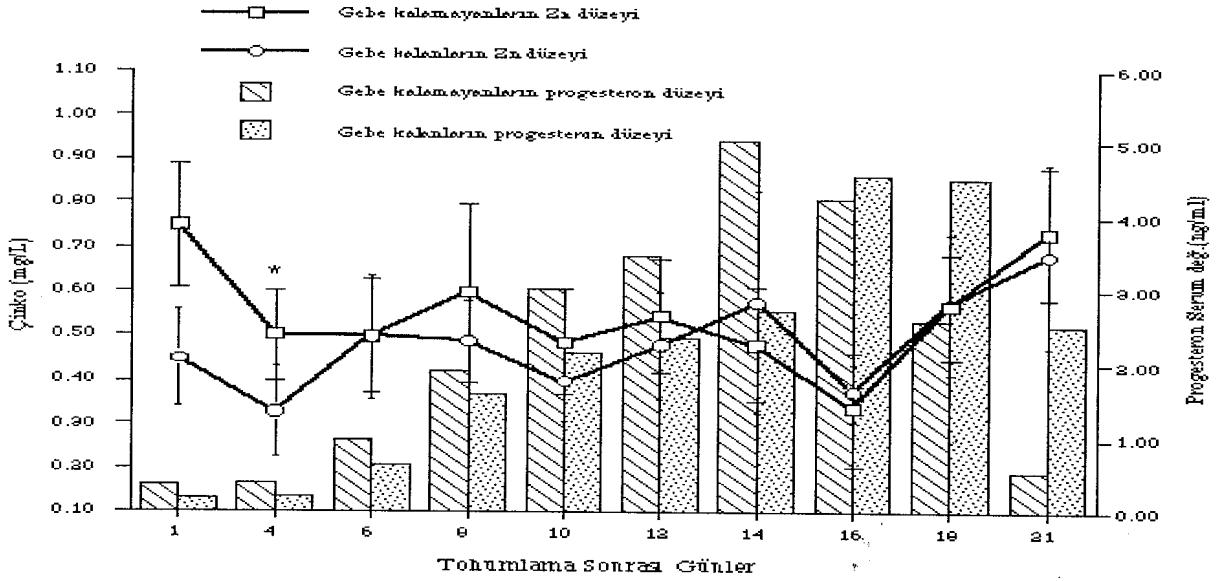
Tablo 2. Tohumlama sonrası kan plazmasındaki çinko ve progesteron değerleri (n=5)

Toh. Sonrası günler	Plazma gebe(-) Zn	V	%CV	Plazma gebe(+) Zn	V	%CV	Plazma proges. geb(-)	Plazma proges. geb(+)
1	0.86±0.12	0.07	30.71	0.94±0.12 ^{a,b}	0.07	27.75	0.14±0.04	0.13±0.01
4	0.85±0.13	0.08	33.44	0.98±0.13 ^c	0.09	30.41	0.24±0.09	0.52±0.22
7	0.89±0.12	0.07	29.89	0.77±0.10 ^{a,d,e}	0.05	29.73	0.89±0.28	1.50±0.37
9	0.72±0.15	0.12	48.00	0.97±0.13	0.90	30.77	1.23±0.34	1.86±0.24
11	0.85±0.16	0.13	42.40	0.84±0.16	0.13	42.66	1.36±0.18	2.29±0.38
14	0.82±0.14	0.11	39.53	0.75±0.15	0.11	43.18	2.06±0.18	2.75±0.61
16	0.84±0.13	0.09	35.25	1.04±0.27	0.37	58.83	1.96±0.17	3.56±0.56
18	0.74±0.15	0.12	46.53	1.16±0.14 ^{b,c,d}	0.10	27.42	2.37±0.38	2.96±0.51
21	0.77±0.11	0.06	32.34	1.23±0.17 ^e	0.15	31.72	0.27±0.13	3.29±0.65
t değeri		P<0.05						

Grup içinde aynı harfle gösterilen günlerin birbiriyle farkı (t değeri); a,b,c,e: P<0.05 d: P<0.01

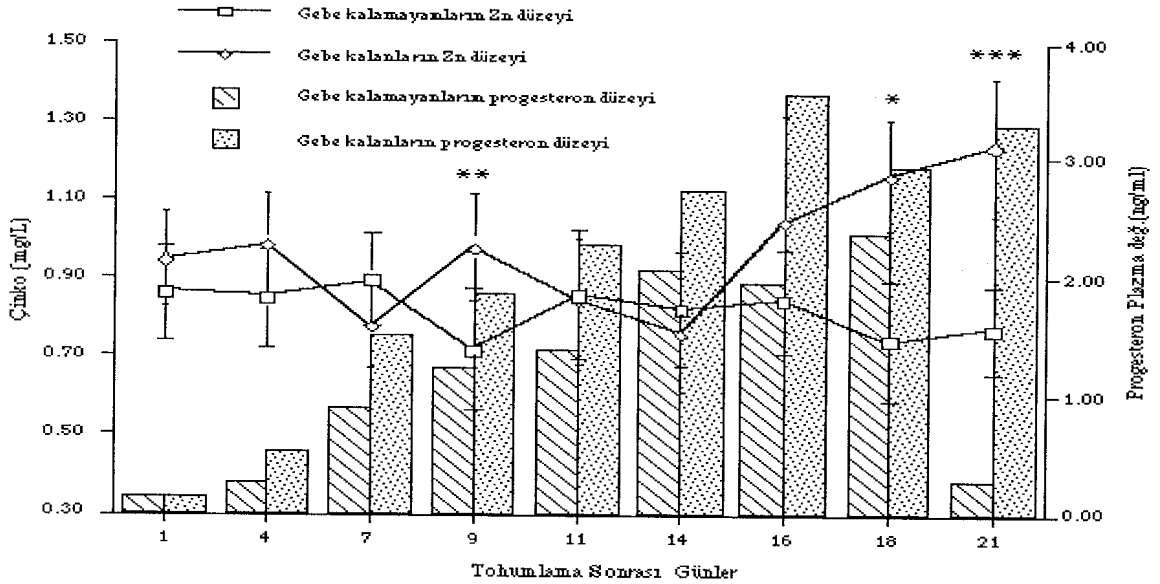
Tablo 3. Tohumlama sonrası kan serumu ve plazması çinko değerlerinin gebe kalanlarla kalamayanlar arasındaki t değeri açısından farkın önemli olduğu günler.

Serum			Plazma		
Gebelik (-) günleri	Gebelik (+) günleri	t değeri	Gebelik (-) günleri	Gebelik (+) günleri	t değeri
1	4	P<0.05	1	21	P<0.025
1	16	P<0.05	4	21	P<0.025
4	4	P<0.025	7	21	P<0.01
12	4	P<0.05	9	1,4,9,18,21	P<0.025
12	10	P<0.05	11	18,21	P<0.05
14	4	P<0.05	14	18	P<0.05
16	1	P<0.05	14	21	P<0.005
18	4	P<0.005	16	18,21	P<0.05
21	1	P<0.05	18	18,21	P<0.05
21	4	P<0.025	21	18	P<0.01
21	16	P<0.025	21	21	P<0.005



*: Çinko değerlerinde aynı günler arasında $P < 0.025$

Şekil 1. Tohumlama sonrası kan serumu çinko değerleri.

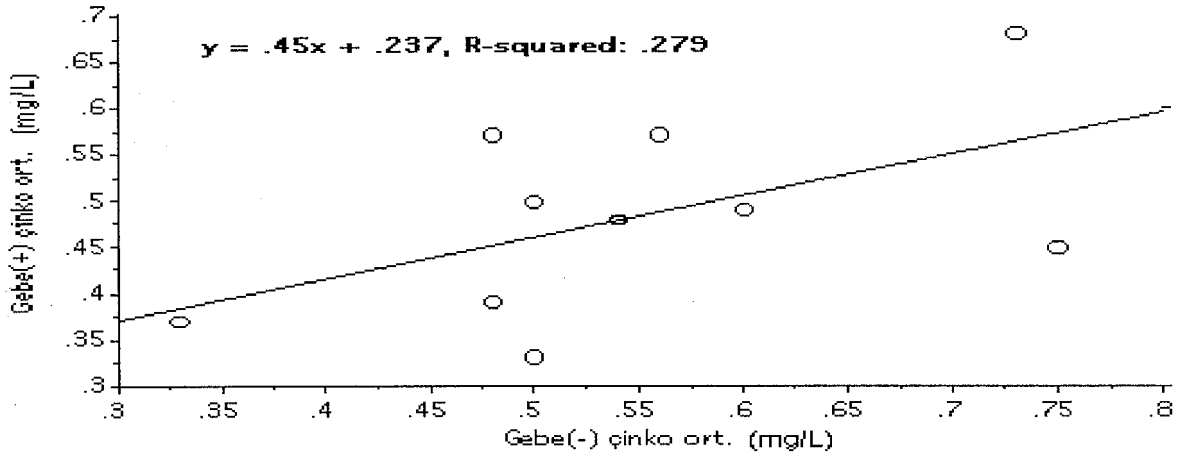


*: Çinko değerlerinde aynı günler arasında $P < 0.05$

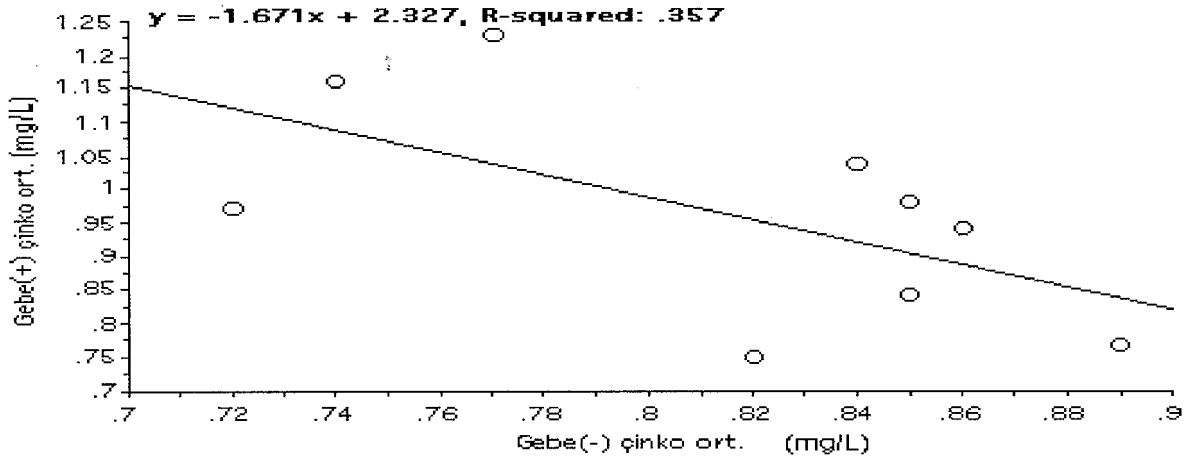
** : Çinko değerlerinde aynı günler arasında $P < 0.025$

***: Çinko değerlerinde aynı günler arasında $P < 0.005$

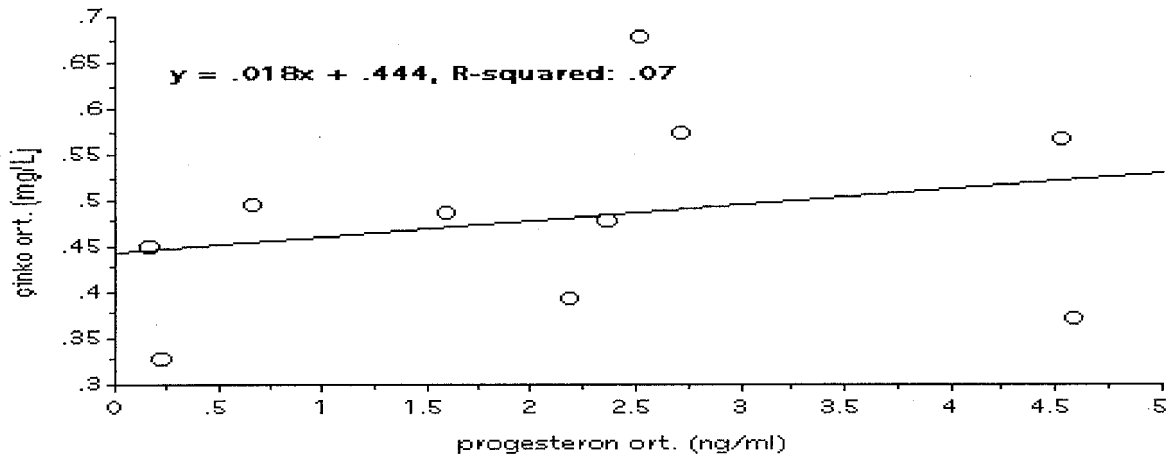
Şekil 2. Tohumlama sonrası kan plazması çinko değerleri



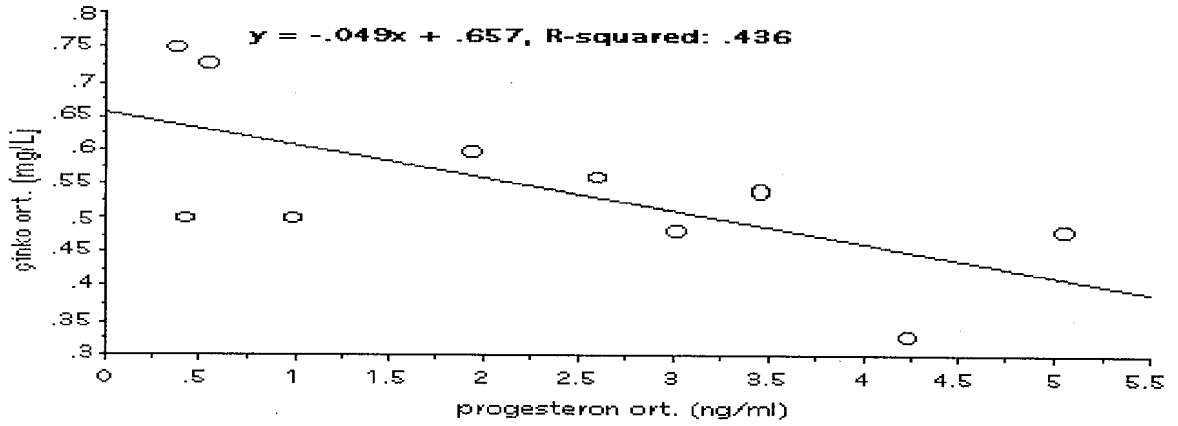
Şekil 3. Kan serumu çinko düzeylerinin gebe kalanlar ve kalmayanlar arasındaki ilişkisi.



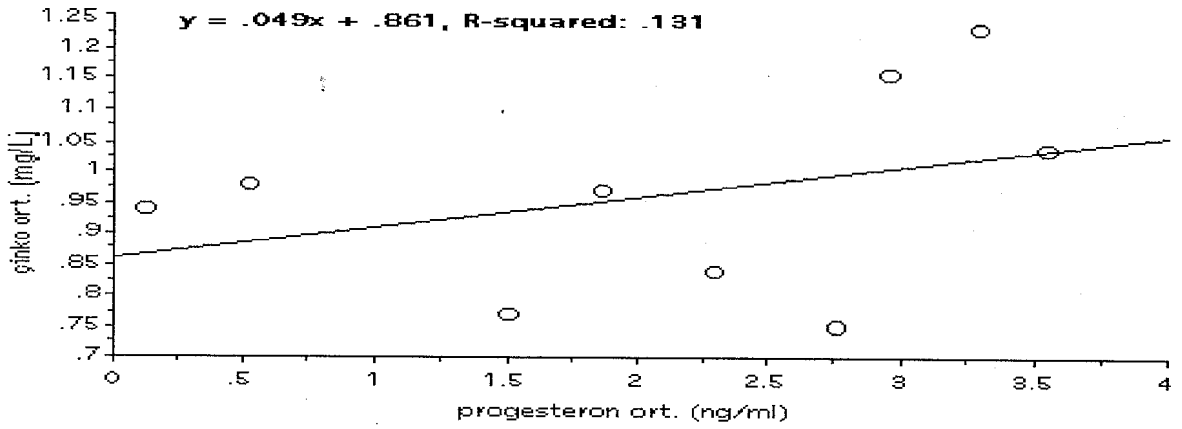
Şekil 4. Kan plazması çinko düzeylerinin gebe kalanlar ve kalmayanlar arasındaki ilişkisi.



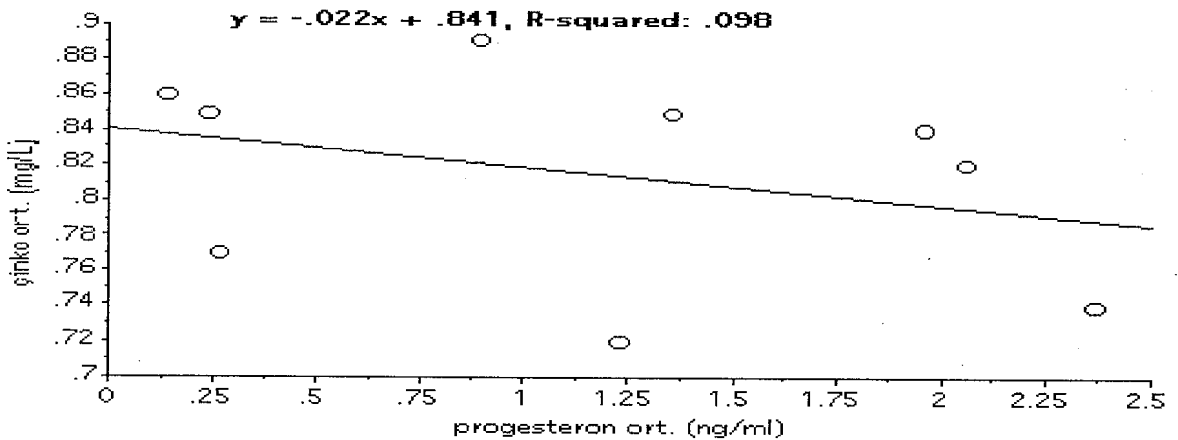
Şekil 5. Tohumlama sonrası gebe kalanlarda kan serumu çinko ile progesteron değerleri arasındaki ilişki.



Şekil 6. Tohumlama sonrası gebe kalamayanlarda kan serumu çinko ile progesteron değerleri arasındaki ilişki.



Şekil 7. Tohumlama sonrası gebe kalanlarda kan plazması çinko ile progesteron değerleri arasındaki ilişki.



Şekil 8. Tohumlama sonrası gebe kalamayanlarda kan plazması çinko ile progesteron değerleri arasındaki ilişkisi.

TARTIŞMA

İçeride bir örnek yemle beslenen inekler üzerinde yapılan bu çalışmada, tohumlama sonrası 21 gün boyunca kan serumu ve plazması değerlerinin sırasıyla 0.33 ± 0.13 - 0.75 ± 0.14 mg/l, ve 0.72 ± 0.15 - 1.23 ± 0.17 mg/l arasında değiştiği, kan plazmasında, kan serumundan daha yüksek oranda çinko bulunduğu tespit edildi. Bu durum dokularda farklı oranlarda çinko bulunduğu görüşünü desteklemektedir (Singh ve ark., 1991). Yapılan bir kısım çalışmada (Singh ve ark., 1991; Mehta ve Gangwar, 1984; Dufty ve ark., 1977) gebelerde kan serumu, plazması ve eritrosit-lerinde gebe olmayanlardan daha yüksek oranda Zn bulunduğu bildirilmektedir. Bu çalışmada ise kan serumu değerlerinin gerek kendi içindeki değerlerle kıyaslanması (Şekil 1) gerekse hayvanın reprodüktif durumunu en sağlıklı olarak yansıttığı kabul edilen progesteron ile ilişkilerine bakıldığında (Şekil 1, 3, 5 ve 6) sadece gebe kalamayanlarda istatistiksel anlamda bir ilişkinin önemli olduğu ($P<0.05$) görülmektedir. Kan plazması Zn seviyelerinde ise; gebe kalanların 18 ve 21.gün örneklerinin, gebe kalamayanların tüm gün örnekleriyle istatistiki anlamda önemli farklılık gösterdiği, başka bir deyişle, Zn düzeyinin gebe olanlarda 18 ve 21. günlerde önemli derecede arttığı tespit edildi (Tablo 3, Şekil 2). Aynı şekilde erken gebelik teşhisinde önemli bir kriter kabul edilen, progesteron ile ilişkilerinin de gebe kalanlarda pozitif, kalamayanlarda negatif yönlü olduğu (Şekil 7, 8) bulundu. Kan serumu Zn-progesteron düzeyleri arasındaki ilişki (Şekil 5, 6) ile kan plazması Zn-progesteron düzeyleri arasındaki ilişki (Şekil 7, 8) birbirine benzerlik göstermektedir. Gebe kalanlarda her iki grupta da pozitif, kalamayanlarda negatif bir ilişki bulunmaktadır. Plazma Zn düzeyi gebe kalanlarla kalamayanlar arasında serum Zn düzeylerinin aksine negatif bir ilişki göstermektedir (Şekil 3, 4). Bu bulgular her ne kadar bu konuda daha başka çalışmaların yapılmasını zorunlu kılıyorsa da bir kısım araştırmada belirtildiği gibi; kan Zn seviyesinin abortus yapan hayvanlarda düşük bulunması (Graham ve ark., 1995; Unanian ve Silva, 1989) ve Zn'nun fertilizasyon ve embriyo canlılığında önemli rol oynayabileceği (Doyle ve ark., 1990) görüşlerini destekler niteliktedir.

Sonuç olarak; Zn'nun gebeliğin ilk aşamalarında, gebe olmayanların aynı günlerine göre daha yüksek olduğu ve gebeliğin erken safhasında önemli rol oynayabileceği kanaatine varıldı. Ayrıca ineklerde Zn düzeylerinin izlenmesi ve tespitinde kan serumu yerine kan plazmasının tercih edilmesi daha sağlıklı sonuçlar verecektir.

KAYNAKLAR

- Abdelrahman, M.M. and Kincaid, R.L., 1993. Deposition of copper, manganese, zinc and selenium in bovine fetal tissue at different stages of gestation. *J.Dairy Sci.*, 76: 3588-3593.
- Abraham, G.E., 1981. The application of natural steroid radioimmunoassay to gynecologic endocrinology. *In Radioassay System in Clinical Endocrinology*. Ed.:G.E. Abraham. pp475-529. Marcel Dekker, Basel.
- Alaçam, E. (Editör), 1994. *Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon Sun'i Tohumlama Doğum ve İnfertilite*. Ülkü Basımevi, Konya.
- Bires, J., Bartko, P., Seidel, H., Sedovic, M., Juhasova, Z., Weissova, T., Anke, M.(eds), Meissner, D.(ed.) and Mills, C.F., 1993. Zinc deficiency and possibilities of its supplementation by injection administration. *Trace Elements In Man and Animals (TEMA 8): Proceeding 8. International Symposium on Trace Elements in Man and Animals*, 327-328.

- Chandolia, R.K. and Verma, S.K., 1987. Blood plasma trace elements in anoestrus buffalo heifers. *Indian J. Anim. Sci.* 57(3): 201-203.
- Doyle, J.C., Huston, J.E. and Thompson, P.V., 1990. Influence of mineral supplementation on bovine serum, liver and endometrium at day 1 and day 12 of the oestrus cycle. *Theriogenology*, 34(1): 21-31.
- Duffy, J.H., Bingley, J.B. and Cove, L.Y., 1977. The plasma zinc concentration of nonpregnant, pregnant and parturient Hereford cattle. *Australian Vet. J.*, 53(11): 519-522.
- Eltohamy, M.M., 1987. Zinc deficiency during pregnancy in rabbits. *J. The Egyptian Vet. Med. Association*, 47(1-2): 489-496.
- Feldman, D. and Gagnon, J., 1988. StatView 512+™. BrainPower Inc., Calabasas.
- Graham, T.W., Giri, S.N., Daels, P.F., 1995. Associations among prostaglandins F₂ alpha, plasma zinc, copper and iron concentrations and fetal loss in cows and mares. *Theriogenology*, 44: 379-390.
- Gülen, Ş. ve Ozan, S., 1996. *Biyokimya Ders Notları*. F.Ü.V. Fakültesi Yayını, Elazığ.
- Kılıç, A. (Çev.), 1985. *Hayvan Besleme*. pp156-157. TÜBİTAK Yay. No:611. Ankara.
- Kubasik, N.P., Hallauer, G.D. and Brodows, R.G., 1984. Evaluation of direct solid-phase radioimmunoassay for progesterone useful for monitoring luteal function. *Clinical Chemistry*, 30(2): 284-286.
- Lavin Gonzalez, S., Monreal Bosch, L., Abad Gavin, M. and Fernandez Celladilla, L., 1988. Influences of reproductive status on the levels of zinc in the blood of cattle. *Medicina Vet.*, 5(11): 601-605.
- Madhavan, E. and Iyer, C.P.N., 1993. Treatment of anoestrus in crossbred cattle with CoCu-H. *Indian J. Anim. Reprod.*, 14(2): 125.
- Mehta, S.N. and Gangwar, P.C., 1984. Seasonal variation in plasma trace minerals of lactating buffaloes. *Indian J. Anim. Sci.*, 54(11): 1035-1036.
- Mills, C.F., 1987. Biochemical and physiological indicators of mineral status in animals: copper, cobalt and zinc. *J. Anim. Sci.*, 65: 1702-1711
- Sarı, M. ve Çerçi, İ.H., 1993. *Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları (Ders Kitabı)*. pp34-35. F.Ü.Veteriner Fakültesi Yayınları, Elazığ.
- Saxena, M.S. and Gupta, S.K., 1992. Plasma concentration of certain trace minerals in normally cycling and anoestrus crossbred heifers. *Indian J. Anim. Health.*, 31(2): 103-105.
- Schwarz, W.A., and Kirchgessner, M., 1975. Experimental zinc deficiency in lactating dairy cows. *Vet. Med. Review*, 1-2: 19-41
- Seitaridis, C., 1977. Treatment of symptom free sterility by zinc. *Bull. Hell. Vet. Med. Soc.*, 28(2): 73-76.
- Setia, M.S., Duggal, R.S., Rajwinder, S. and Rajvir, S., 1994. Distribution of trace elements in whole blood and blood plasma during late pregnancy and different stages of lactation in buffaloes and cow. *Buffalo J.*, 10(3): 213-220.
- Singh, R., Singha. S.P.S., Singh, R. and Setia, M.S., 1991. Distribution of trace elements in blood, plasma and erythrocytes during different stages of gestation in buffalo (*Bubalis bubalis*). *Buffalo J.*, 7(1): 77-85
- Unanian, M.M. and Silva, A.E.D.F., 1989. Studies associating malnutrition with abortion in goats in the North-eastern Region of Brazil. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 24(10): 1221-1228.
- Vrzgula, L., 1991. *Metabolic disorders and their prevention in farm animals*. pp:149-151. Elsevier. Amsterdam, Oxford, New York, Tokyo.