

Effects of Rumen Protected Lysine and Methionine Supplementation on Some Blood Metabolic Parameters in Prepubertal Holstein Heifers

Oğuzhan SARIİBRAHİMOĞLU¹, Hande Işıl AKBAĞ¹, Cangir UYARLAR^{2*}

¹Çanakkale Onsekiz Mart University, Faculty of Agriculture, Department of Zootchnics, 17020, Çanakkale, Türkiye

²Afyon Kocatepe University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Animal Nutrition and Nutritional Diseases, 03200, Afyonkarahisar, Türkiye

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the effects of supplemental rumen protected lysine and methionine on some blood metabolic parameters in prepubertal Holstein heifers. Forty, healthy, 9-month-old heifers were divided into two groups as control (C) and treatment (T). C heifers were fed a standard diet which has been prepared according to NRC (2001), whereas T heifers were fed a lysine (7.1% of MP) and methionine (2.4% of MP) enriched (Lysigem and Methipearl, Kemin Ind., Belgium) diet. Blood samples were taken from all heifers at the beginning of the study, on the day of artificial insemination and on the day of pregnancy detection. All blood samples were analyzed for glucose (GLU), beta-hydroxybutyric acid (BHBA), non-esterified fatty acids (NEFA), total cholesterol (TCHOL), triglycerides, total protein (TP) and blood urea nitrogen (BUN). It was determined that the levels of GLU, NEFA and BHBA, which are blood metabolism parameters, changed statistically ($p<0.001$) in the periods when prepubertal, insemination and pregnancy were detected, while the levels of TKOL, TRIG and BUN did not change significantly. Moreover, increasing lysine and methionine content of the prepubertal diet caused an increase in serum TCHOL concentration ($p<0.005$) whereas decreased serum TP concentration ($p<0.05$)

Keywords: Heifer, Holstein, prepubertal, serum metabolites

Holştayn Irkı Düvelerde Pubertas Öncesinde Rasyona Rumen Korunmalı Lizin Ve Metiyonin İlavesinin Bazı Kan Metabolizma Parametreleri Üzerine Etkileri

ÖZ

Bu çalışmada Holştayn ırkı düvelerde yaşamın 9. ayından başlanarak gebeliğin belirlendiği zamana kadar rasyona rumen korunmalı lizin ve metiyonin ilavesinin bazı kan metabolizma parametreleri üzerine etkileri incelenmiştir. Bu amaçla 40 adet sağlıklı ve 9 aylık yaşı doldurmuş (9-10 ay arası) Holştayn ırkı düveler rastgele örnekleme metodu ile K (Kontrol) ve U (Uygulama) olmak üzere 2 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubundaki düveler NRC (2001)'e göre hazırlanmış standart bir rasyonla, uygulama grubundaki düveler ise rumen korunmalı amino asitler kullanılarak (Lysigem ve Methipearl, Kemin Ind., Belgium) lizin (MP'nin %7.1'i) ve metiyonin (MP'in %2.4'ü) düzeyleri artırılmış bir rasyonla ad-libitum olarak beslenmiştir. Tüm düvelerden çalışma başlangıcında, tohumlama zamanında ve gebeliğin tespit edildiği gün vena coccygea yolu ile kan numunesi alınmıştır. Alınan kan numuneleri ilgili kitler kullanılarak glukoz (GLU), betahidroksibütirat (BHBA), esterleşmemiş yağ asitleri (NEFA), total kolesterol (TK), trigliserit (TG), total protein (TP) ve kan üre nitrojeni (BUN) analizleri yapılmıştır. Çalışmada kan metabolizma parametrelerinden GLU, NEFA ve BHBA düzeylerinin prepubertas, tohumlama ve gebelik tespit edilen dönemlerde istatistiksel olarak anlamlı şekilde değiştiği ($p<0.0001$), TK, TP ve BUN düzeylerinin ise anlamlı şekilde değişmediği ($p>0.5$) tespit edilmiştir. Ayrıca rumen korunmalı lizin ve metiyonin kullanılarak rasyonun metabolik lizin ve metiyonin düzeyinin artırılmasının tohumlama zamanında kanda TK seviyesini artırdığı ($p<0.005$), TP seviyesini ise düşürdüğü belirlenmiştir ($p<0.05$).

Anahtar Kelimeler: Düve, Holştayn, prepubertal, serum metabolitleri

To cite this article: Sarııbrahimoğlu O, Akbağ H.I, Uyarlar C. Effects of Rumen Protected Lysine and Methionine Supplementation on Some Blood Metabolic Parameters in Prepubertal Holstein Heifers. Kocatepe Vet J. (2022) 15(4):423-431

Submission: 23.06.2022 Accepted: 24.11.2022 Published Online: 04.12.2022

ORCID ID; OS: 0000-0002-1928-6892, HLA: 0000-0002-7325-4453, CU: 0000-0002-7803-2454

*Corresponding author e-mail: cangiruyarlar@hotmail.com

GİRİŞ

Günümüzde genetik ilerlemeler ve yıllardır süregelen ıslah çalışmaları sayesinde özellikle sütçü karakterdeki düvelerin büyüme ve gelişimleri çok hızlı şekillenmektedir. Bu sayede düvelerin sürüye ekonomik olarak kazanç sağlamadıkları süreç kısa sürmekte ve doğumla birlikte onlardan en hızlı şekilde gelir elde edilmeye başlanmaktadır. Ancak bu hızlı büyüme ve gelişme bütün yönleri ile avantajlı değildir. Özellikle pubertas öncesi büyüme hızı ile ilk tohumlama yaşı, ilk doğum yapma yaşı ve ilk laktasyondaki süt verimi arasında negatif bir ilişki vardır (Swanson 1960, Gardner ve ark. 1977, Little ve Kay 1979, Foldager ve Serjensen 1987). Yani bir başka deyişle, büyüme hızını artırmak düvelerden elde edilen hayat boyu verimliliği olumsuz yönde etkilemektedir (Van Amburgh ve ark. 1998).

Holştayn ırkı sütçü düvelerin ilk doğum yaşı ve canlı ağırlığının ideal koşullarda olması yaşam boyu verimliliği etkilediği için süt işletmeleri açısından hem verim hem de karlılık açısından çok önemlidir (Brickell ve ark. 2009). Keown ve Everett (1986)'nın bildirdiğine göre düvelerde ideal ilk doğum yaşı 24 ay, canlı ağırlığı ise 544-567 kg'dır. İdeal ilk doğum yaşını yakalayabilmek için düveler 13 aylık yaştan itibaren seksüel olgunluğa gelerek tohumlanma programına alınmalı ve 15 aylık yaşta gebe kalmaları sağlanmalıdır (Place ve ark. 1998). Büyüme hızı direkt olarak günlük canlı ağırlık artışı (GCAA) ile ilişkilidir. Buna göre özellikle seksüel olgunluk çağına yaklaşıırken yetersiz beslenme nedeniyle düvelerde pubertasın başlaması gecikmekte ayrıca iskelet sisteminin gelişimi de olumsuz yönde etkilenmektedir. Ayrıca prepubertas dönemde yetersiz beslenen düvelerde güç doğum riski de artmakta ve böylelikle hem buzağının yaşama şansı düşmekte hem de düvenin yaşam boyu döl verimi ve sağlık parametreleri olumsuz yönde etkilenmektedir (Ettema ve Santos 2004).

Sütçü düvelerde pubertasa ulaşma yaşının hedeflendiği gibi 12-13 ay olmasında GCAA'nın rolü elbette ki çok büyüktür. Ancak son yıllarda metabolik durumun da pubertasın başlamasında etkili olduğunu bildiren çalışmaların sayısı günden güne artmaktadır (Anderson ve ark. 2015, Funston ve ark. 2012, Perry ve ark. 2012).

Büyüme ile ilişki içerisinde birçok metabolik ve endokrin parametre bulunmaktadır (Brickell ve ark. 2009). Kanda sirküle eden bu metabolitlerden glikoz ve üre gibi enerji ve protein metabolizması hakkında bilgi veren parametreler aynı zamanda büyüme ve gelişme adına da fikir sahibi olunmasını sağlar (Smith ve ark., 2002). Kan üre seviyesi özellikle rasyondaki protein/enerji oranından etkilenir (Hosseini-Zadeh ve Ardalani, 2011). Kan glikoz seviyesi hayvanlarda enerji metabolizmasının önemli indikatörlerinden birisi olup yetersiz sindirilebilir karbonhidratça beslenme, yetersiz yem tüketimi ve günün belirli saatlerinde yem bulamama ve buna bağlı aç kalma durumlarında kan glikoz seviyesi düşer (Chelikani ve ark. 2004).

Pubertas öncesinde kan glikoz seviyesinin düşük olmasının (Greenwood ve ark. 2002, Smith ve ark. 2002, Terre ve ark. 2006) da yüksek olmasının (Taylor ve ark. 2004, Swali ve ark. 2008) da zararlı olduğunu bildiren çeşitli çalışmalar mevcuttur. Buna göre düvelerde pubertas öncesi ve sonrası kan glikoz seviyesinin hangi düzeylerde olması gerektiğini tam anlamıyla ortaya koymak için hala çalışmalara ve yeni bilgilere ihtiyaç duyulmaktadır (Brickell ve ark. 2009). Total kolesterol, steroid hormonların yapısına giren bir molekül olduğu için kolesterolün kandaki seviyesi döl verimi ile ilgili parametreler ile yakından ilişkilidir (Anderson ve ark. 2015). Başta progesteron hormonu ve östrojen olmak üzere eşey hormonlarının üretilebilmesi için süt sığırlarında kanda kolesterol seviyesi kritik eşik olan 70 mg/dl'nin altına inmemesi istenir. Kan kolesterol seviyesi ile pubertastaki sütçü düvelerin fertilitite parametrelerinin ilişkili olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (Talavera ve ark. 1985). NEFA (Esterleşmemiş Yağ Asitleri, Non Esterified Fatty Acids) vücutta depo olarak bulunan yağ doku (Adipoz doku) mobilize olurken kana geçtiği form olup Beta-hidroksibütirik Asit (BHBA) ile sığırlarda negatif enerji dengesinin en önemli indikatörlerini oluştururlar (Ospina ve ark. 2010). NEFA'lar kan yolu ile metabolize edileceği yer olan karaciğere ulaşır, karaciğerde bir kısmı okside olur, bir kısmı tekrar esterleştirilerek trigliseritlere dönüştürülerek ya VLDL (Çok Düşük Dansiteli Lipid, Very Low Density Lipid) şeklinde kana tekrar gönderilir ya da karaciğer dokusunda birikir (Drackley ve ark. 2001). BHBA (Beta-hidroksibütirik Asit) ise NEFA'nın karaciğerde karnitin palmitoltransferaz-1 aktivitesi ile ortaya çıkan oksidasyon ürünlerinden birisidir. Dolayısıyla kandaki BHBA düzeyi ile NEFA seviyesi arasında çok yakın bir ilişki vardır (Anderson ve ark. 2015). Ayrıca BHBA kandaki baskın keton cismi olduğu için özellikle negatif enerji dengesinin hâkim olduğu dönemlerde ketozisin izlenmesi açısından da önemlidir. Dolayısıyla tüm bu kan parametreleri ile vücuttaki enerji-protein metabolizmasının durumu arasında yakın bir ilişki olup, metabolik faaliyetler bu parametrelerin analizi ile takip edilebilir.

Lizin ve metiyonin tüm hayvanlarda olduğu gibi ruminantlar için de esansiyel amino asitler arasında değerlendirilir. Bu iki amino asit karaciğerde l-karnitin biyosentezindeki reaksiyonlara katıldığından dolayı enerji metabolizmasını ilgilendiren metabolik parametreleri etkilemektedir (Civelek ve ark. 2013). Ayrıca metiyonin karaciğerde metil vericisi olarak görev alarak ruminantlarda enerji ve protein metabolizmasına ekstra bir şekilde katkıda bulunur (Pinotti ve ark., 2002). Bu bilgileri destekler şekilde Kröber ve ark. (2009) süt sığırlarının rasyonlarına eklenen rumen korumalı lizin ve metiyoninin kanda GLU, NEFA, asetoasetik asit ve kolesterol seviyelerinde metabolizma için olumlu olarak değerlendirilebilecek değişimlere sebep olduğunu

bildirmektedir. Ancak enerji metabolizması ve kandaki metabolik parametreler ile bu kadar yakın ilişki içerisinde olan bu iki amino asitin rasyona eklenmesinin pubertas öncesi sütçü düvelerde metabolik parametrelere olan etkisini detaylı bir şekilde ortaya koyan bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Yapılan bu çalışmada da Holştayn ırkı sütçü düvelerin pubertas öncesi rasyonlarında lizin ve metiyonin düzeyinin artırılmasının farklı dönemlerde kandaki glukoz, beta-hidroksibütirat, esterleşmemiş yağ asitleri, total kolesterol, trigliserit, total protein ve kan üre nitrojeni gibi önemli metabolik parametreler üzerine etkisinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

MATERYAL ve METOT

Bu çalışma Çanakkale ilinin Gökçalı Köyü'nde faaliyet gösteren Kaanlar Damızlık Süt Sığırcılığı İşletmesi'nde yürütülmüştür. Bu çalışmada Holştayn ırkı düvelerde, yaşamın 9. ayından itibaren gebeliğin belirlendiği zamana kadar rasyona rumen korumalı lizin ve metiyonin ilavesinin bazı kan metabolizma parametreleri üzerine etkileri incelenmiştir. Bu amaçla 40 adet sağlıklı ve 9 aylık yaşı doldurmuş Holştayn ırkı düve rastgele örnekleme metodu ile Kontrol (K) ve Uygulama (U) olmak üzere 2 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubundaki düveler çalışma boyunca "Süt Sığırcılığının Besin Madde İhtiyacı" (NRC, 2001) adlı referans kaynakta tavsiye edilen enerji, protein, vitamin içeren bir rasyonla ad-libitum olarak beslenmiştir. Uygulama grubundaki düveler ise besin madde düzeyi benzer ancak lizin düzeyi metabolik proteinin %7.1'i lizin, %2.4'ü metiyonin olacak şekilde rumen korumalı amino asitler (LysiGEM ve MetiPEARL, Kemin Industries) eklenmiş bir rasyonla beslenmiştir. Her iki grubun rasyonları ile ilgili ayrıntılı bilgiler Tablo 1., 2. ve 3'te ayrıntılı bir şekilde gösterilmiştir.

Çalışmanın başlangıcında tüm hammaddelerden alınan örneklere, çalışma boyunca ise haftada bir defa alınan TMR örneklerine kuru madde (KM), ham protein (HP), ham yağ (HY), ham kül (AOAC, 1990), NDF ve ADF (Van Soest ve ark.,1981) analizleri yapılmıştır. TMR formülasyonları haftalık olarak bu analizler doğrultusunda kalibre edilmiştir. Ayrıca ad-libitum beslemeyi sağlayabilmek adına TMR formülasyonları günlük olarak her sabah 10.00'da hayvanların ihtiyacının %125'i olacak şekilde hazırlanmış olup, artan yemler taze yem dökülmeden önce yine günlük olarak toplanmıştır. Artan yemler günlük olarak tartılarak yem tüketimi takip edilmiştir.

Çalışma başından itibaren işletmedeki veteriner hekimin günlük kontrolü altında olan düveler 14 aylık yaşa ulaşmalarından sonra takibe alınarak doğal kızgınlık gösterenler suni tohumlama yöntemi ile tohumlanmıştır. Tohumlamayı takip eden 25. günde yine işletmedeki sorumlu veteriner hekim tarafından ultrasonografik yöntemle gebelik muayenesi yapılarak gebe hayvanlar kayıt altına alınmış ve çalışma onlar için sonlandırılmıştır. Tohumlama sonrası gebe kalmayan hayvanlarda ise kızgınlık takibine devam edilmiş ve bir sonraki kızgınlıkta yine aynı işlemler tekrarlanmıştır. Çalışma boyunca hangi düvenin hayatının kaçınıcı gününde gebe kaldığı da yine kayıt altına alınmıştır.

Tüm düvelerden çalışma başlangıcında, tohumlama zamanında ve gebeliğin tespit edildiği gün vena coccygea yolu ile kan numunesi alınmıştır. Alınan kan numuneleri oda sıcaklığında 10.000 r.p.m.'de 10 dakika boyunca santrifüj edilerek serumları elde edilmiş, serum numuneleri ise analizin gerçekleştirildiği güne kadar -21 °C'de dondurulmuştur. Tüm serum örneklerine işletmenin laboratuvarında bulunan Cobass C111 marka ve model otomatik analizör yardımı ile ve ilgili kitler kullanılarak glukoz (GLU), betahidroksibütirat (BHBA), esterleşmemiş yağ asitleri (NEFA), total kolesterol (TK), trigliserit (TG), total protein (TP) ve kan üre nitrojeni (BUN) analizleri yapılmıştır.

Serum glukoz, NEFA, BHBA, total kolesterol, total protein ve BUN düzeylerine ilişkin istatistiksel analizlerde grup, dönem ve grup x dönem etkileşimlerinin ana etki kaynağı olarak yer aldığı tekrarlamalı ölçümlerde varyans analizi kullanılmış olup, BHBA düzeyine ait veriler üzerinde gerçekleştirilen homojenite testi bulguları doğrultusunda veriler logaritmik transformasyona tabi tutulmuşlardır. Grup ortalamaları arasındaki farklılıkların tespitinde Tukey Çoklu karşılaştırma testinden yararlanılmıştır. Tüm istatistik analizlerde SAS, versiyon 9 (1999) paket programından yararlanılmıştır.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan TMR bileşimi
Table 1. Feedstuff content of TMR

Hammaddeler	% Kuru Madde
Mısır Silajı	23.93
Yonca Kuru Otu	23.84
Buğday Samanı	20.47
Konsantre Yem Karması	31.76

Tablo 2. Konsantre yem karması bileşimi ve besin madde kompozisyonu
Table 2. Feedstuff content and nutrient composition of the Grain Mix

Hammaddeler (%)	Kontrol	Uygulama
Buğday Kepeği (İnce öğ.)	50.0	50.0
Mısır, Öğütülmüş	27.0	27.0
DDGS, (Mısır)	15.0	15.0
Maya Artıkları	5.0	3.5
Mermer Tozu	2.0	2.0
Vitamin-Mineral Karması	1.0	1.0
LysiGEM (KEMIN IND.)	0.0	1.1
Metipearl (KEMIN IND.)	0.0	0.4

Besin Madde Kompozisyonu (%)	Kontrol	Uygulama
Ham Protein	15.32	15.46
Metabolik Enerji (Mcal/kg)	2.67	2.69
Ham Selüloz	7.91	7.86
Niştasta	31.41	31.38
NFC	39.36	38.74
Kalsiyum	1.02	1.01
Fosfor	0.89	0.88

Tablo 3. Çalışmada kullanılan TMR besin madde kompozisyonu
Table 3. Nutrient Composition of TMR

Besin maddeleri	Kontrol	Uygulama
Ham Protein (% Kuru Madde)	11.48	11.49
Metabolik Enerji (Mcal/Gün)	17.47	17.65
NDF (% Kuru Madde)	48.24	48.19
ADF (% Kuru Madde)	30.35	30.28
NSC (% Kuru Madde)	21.41	21.53
Kalsiyum	0.79	0.79
Fosfor	0.46	0.46
Lizin %MP*	5.35	7.21
Metiyonin %MP*	2.11	2.68

NDF: Nötral Deterjan Lif; ADF; Asit Deterjan Lif; NSC; Yapısal Olmayan Karbonhidratlar

* Çalışmadaki rasyonların lizin ve metiyonin düzeyleri CNCPS (Cornell Net Carbohydrate and Protein System) versiyon; 6.55 işletim sistemine sahip NDS (Nutritional Dynamic System) adlı rasyon programı yardımıyla hesaplandı.

BULGULAR

Yapılan bu çalışmada prepubertal dönemdeki (9-13 aylık yaşta) Holştayn ırkı düvelere lizin ve metiyonince zenginleştirilmiş rasyon ile beslenmesi düvelerde kandaki ana metabolizma parametreleri olan GLU, NEFA, BHBA, TK, TP ve BUN seviyelerine olan etkisi incelenmiştir. Çalışmada pubertas öncesi ve sonrasında metabolizma ve verimlilik açısından en kritik dönemler olan pubertastan 1-2 ay önce

(çalışmanın başında), tohumlama zamanında ve gebeliğin tespit edildiği günde tüm hayvanlara kanda metabolizma analizi yapılmıştır. Elde edilen verilere yapılan istatistik analizi neticesinde her iki grupta da kanda GLU, NEFA ve BHBA seviyelerinin zamana bağlı olarak değişim gösterdiği ($p<0.05$) TK, TP ve BUN değerlerinin ise zamana bağlı değişim göstermediği belirlenmiştir (Tablo 4).

Tablo 4. Gruplarda ölçülen serum parametreleri üzerine dikkate alınan etki kaynaklarının istatistik önem seviyeleri

Table 4. Statistical importance level of source of influence on serum parameters in groups

Etki kaynağı	Grup	Dönem	Grup x dönem
Glukoz	0.2888	<.0001	0.1238
NEFA	0.9629	<.0001	0.7466
BHBA	0.2457	<.0001	0.2341
Total kolesterol	0.6224	0.1607	0.0040
Total protein	0.2693	0.8635	0.0381
BUN	0.4148	0.2628	0.3734

Buna göre kan parametrelerinin zamana bağlı değişimi tek tek incelenecek olunursa, glukoz seviyesinin tohumlama zamanında düştüğü ancak gebelik tespit edildiği gün tekrar yükseldiği, NEFA ve BHBA seviyesinin ise tohumlama zamanında yükseldiği ancak gebelik tespitinde düştüğü saptanmıştır (Tablo 5). Zamana bağlı TK, TP ve BUN seviyelerinin ise her ne kadar rakamsal farklılıklar gösterse de istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik göstermediği belirlenmiştir. Bu kan parametrelerinin gruplar arası farklılıkları incelendiğinde ise glukoz, NEFA, BHBA ve BUN değerleri açısından gruplar arasında istatistik açıdan anlamlı bir değişiklik olmadığı ancak TK ve TP açısından anlamlı bir fark ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir (Tablo 6). Buna göre tohumlama zamanında kanda TK seviyesinin kontrol grubunda

önemli düzeyde düşük düzeyde olduğu ($p<0.05$), TP seviyesinin ise yine tohumlama zamanında uygulama grubunda önemli düzeyde düşük olduğu ($p<0.05$) tespit edilmiştir. Bu iki parametre açısından kan örneği alınan diğer dönemler olan pubertas öncesi ve gebelik tespit edildiği günlerde gruplar arasında fark tespit edilmemiştir. İki parametrede (TK ve TP) elde edilen farklılığın sadece tohumlama zamanında olması, Holştayn ırkı sütçü düvelerin pubertas öncesi beslenmesinde rasyonlarındaki metiyonin ve lizin düzeyini artırmanın hayvanlarda pubertas sonrası tohumlama döneminde yağ ve protein metabolizmasında birtakım etkileri olabileceği izlenimi doğurmaktadır.

Tablo 5. Gruplarda ölçülen serum parametrelerinin döneme ve gruplara göre değişimi

Table 5. Alteration of serum parameters according to period and groups.

Dönem	GLU (mg/dl)	NEFA (mmol/l)	BHBA* (mmol/l)	TK (mg/dl)	TP (mg/dl)	BUN (mg/dl)
Deneme başı	56.01	0.29	0.52	68.60	6.92	9.53
Tohum. Zam.	50.51	0.45	0.58	63.02	6.95	9.80
Gebelik	54.97	0.36	0.52	63.69	6.98	10.24
SHO*	0.666	0.018	0.003	2.225	0.087	0.003
P	<.0001	<.0001	<.0001	0.1607	0.8635	0.2628
Grup						
Kontrol	53.42	0.368	0.54	65.74	7.05	10.00
Uygulama	54.24	0.367	0.55	64.67	6.92	9.71
SHO*	0.544	0.015	0.003	1.816	0.081	0.249
P	0.2888	0.9629	0.2457	0.6224	0.2693	0.4148

GLU; glukoz, NEFA; Esterleşmemiş Yağ Asitleri, BHBA; Betahidroksibütirik Asit, Total Kolesterol; TK, Total Protein; BUN, Kan Üre Nitrojen; SHO; Standart Hata Ortalaması; P: İstatistik Önem Düzeyi

*BHBA verileri normal dağılım göstermediğinden log 10 tabanında transforme edildi. Tablodaki değerler transforme değerlerdir.

Tablo 6. Gruplarda ölçülen serum parametreleri grup x dönem interaksyonun etkisi
Table.6. Effect of group x period interaction on serum metabolites

Parametre	Dönem	KONTROL	UYGULAMA
(TK)	Deneme başı	72.17 ^a	65.02 ^{abc}
	Tohumlama zamanı	57.40 ^{bc}	68.64 ^a
	Gebelik	67.65 ^{ac}	59.73 ^c
SHO: 3.146, P: 0.004			
(TP)	Deneme başı	6.92 ^{ab}	7.10 ^a
	Tohumlama zamanı	7.16 ^a	6.74 ^b
	Gebelik	7.06 ^{ab}	6.91 ^{ab}
SHO: 0.124, P: 0.0381			

SHO: Standart Hata Ortalaması; P: İstatistiki Önem Düzeyi

*Harfler dikey olarak grup içi zamana bağlı değişimi ifade etmektedir.

TARTIŞMA

Yapılan bu çalışmada prepubertal dönemdeki Holştayn ırkı düvelere lizin ve metiyonince zenginleştirilmiş rasyon ile beslenmesi düvelerde kan glukoz, NEFA, BHBA, BUN seviyelerini değiştirmemiş, ancak total kolesterol seviyesini artırmış, total protein seviyesini ise düşürmüştür.

Kandaki NEFA, BHBA ve glukoz değerleri, hayvanların enerji metabolizma durumları ile ilgili bilgi veren en değerli parametrelerdir. Şiddetli negatif enerji dengesindeki sığırlarda kan NEFA ve BHBA seviyesi yükselmekte (Anderson ve ark. 2015), glukoz seviyesi ise düşmektedir (Bauman ve Curie 1980). Ayrıca araştırmacılar şiddetli düzeyde bir negatif enerji dengesinden bahsedilebilmesi için kanda NEFA seviyesinin 0.8 mmol/l'nin üzerinde (Roberts ve ark. 2012), BHBA seviyesinin 1 mmol/l'nin üzerinde (Duffield 2000), glukoz seviyesinin ise 40 mg/dl'nin altında (Gordon, 2013) olması gerektiğini bildirmektedirler. Ancak yapılan bu çalışmada gerek uygulama grubu gerekse kontrol grubundaki hayvanlarda kan alınan hiçbir dönemde (pre-postpubertal) bu üç parametre de bahsedilen seviyelere gelmemiştir. Sadece tohumlama zamanında glukoz seviyesi 50 mg/dl seviyesine yaklaşmıştır. Dolayısıyla yapılan bu çalışmada hayvanlar şiddetli bir negatif enerji dengesine maruz kalmamışlardır. İlaveten, kanda GLU, NEFA ve BHBA seviyeleri her iki grupta da zamana bağlı bir değişim göstermiş olup GLU seviyesi tohumlama zamanında düşmüş ($p<0.0001$), aksine NEFA ve BHBA seviyeleri ise yükselmiştir ($p<0.0001$). Bu bulgular negatif enerji dengesini ifade eder (Gross ve ark., 2011).

Tohumlama döneminde gelişen negatif enerji dengesinin ana sebebi hayvanda meydana gelen hormonal değişim olabilir. Çünkü tek mideli hayvanlarda olduğu gibi (Butera ve Beikirch, 1989) geviş getiren hayvanlarda da kanda östrojen hormonunun artışı ile yem tüketimi arasında negatif bir korelasyon olduğu bildirilmektedir (Forbes, 1986; Grummer ve ark., 1990). Ayrıca kızgınlıktaki sığırların yemlikte daha az süre durduğunu (Hurnik ve ark 1975) daha az yem tükettiğini (Reith ve ark. 2014) ve yetersiz kuru madde aldığını (Diskin ve Sreenan 2000) bildiren çalışmalar da bulunmaktadır. Dolayısıyla tohumlama döneminde kanda artan östrojen hormonunun etkisi ile yem tüketimi düşerek çalışmadaki hayvanların hafif düzeyde negatif enerji dengesinin etkisi altına girmelerine neden olmuş olabilir. Ancak asıl sebebin daha detaylı bir şekilde açıklanabilmesi için gerek pubertas öncesi ve sonrası dönemde düvelerde enerji metabolizmasını daha detaylı ele alan çalışmalara gerekse metabolik parametrelerin çeşitlendirilerek benzer çalışmalar yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışmada gruplar arasında fark görülen parametreler ise kanda TK ve TP'dir. Kanda TK düzeyi uygulama grubunda tohumlama döneminde daha yüksek bulunmuştur ($P<0.05$). Kanda kolesterol seviyesi ile lizin ve metiyonin arasındaki bağlantıyı kapsamlı bir şekilde açıklayan araştırmalardan birisi de Bouyeh ve Gevorgyan (2011)'a aittir. Araştırmacılar broiler piliçlerde NRC (1994)'te bildirilen seviyelerden daha yüksek düzeyde lizin ve metiyonin içeren bir rasyonla besleme durumunda kanda kolesterol seviyesinde önemli bir artış olduğunu tespit etmişlerdir. Bunun en önemli sebeplerinden birisi olarak da bu iki amino asitin L-karnitin ön maddesi olarak kullanılmasını ve buna bağlı olarak L-karnitin sentezindeki artışı

göstermişlerdir. Araştırmacılara göre L-karnitin sentezinin artışı ile kaslarda ve karaciğerde karnitin konsantrasyonu artar, buna bağlı olarak karnitin asetiltransferaz aktivitesi yükselir ve asetil-CoA'nın mitokondiriden sitozole geçişi artar. Asetil-CoA ise kolesterol sentezinde, kolesteroldeki tüm karbon atomlarının ana kaynağını oluşturur. Böylece karaciğerde kolesterol sentezi artar ve kandaki seviyesi yükselir. Araştırmacılar bunu destekler şekilde yüksek oranda lizin ve metiyonin ile besledikleri piliçlerin kanlarında trigliserit seviyesinin de azaldığını belirtmişlerdir. Dolayısıyla karaciğerde trigliseritlerden kolesterol sentezleme reaksiyonunun artmış olabileceği söz konusudur. Benzer bir şekilde Giroux ve ark. (1999) da yüksek düzeyde lizin ve metiyonin ile beslenen tavşanlarda kan kolesterol seviyesinin yükseldiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmalarla benzer şekilde yapılan bu çalışmada pubertas dönemindeki sütçü sığırlarda rasyonun metiyonin ve lizince zenginleştirilmesi ile kanda kolesterol seviyesinin yükselmesi önemli bir bulgudur. Çünkü steroid hormonların yapısına giren bir molekül olduğu için kolesterolün kandaki seviyesi döl verimi ile ilgili parametreler ile yakından ilişkilidir (Anderson ve ark. 2015). Başta progesteron hormonu ve östrojen olmak üzere eşey hormonlarının üretilebilmesi için süt sığırlarında kanda kolesterol seviyesi kritik eşik olan 70 mg/dl'nin altına inmemesi istenir (Talavera ve ark. 1985). Bu hipotezi kuvvetlendirecek şekilde (Anderson ve ark. 2015) yaptıkları bir çalışmaya göre Holştayn ırkı sütçü düvelerin rasyonunda enerji düzeyi sabit tutulmak kaydıyla DDGS (Kurutulmuş, Damıtılmış Tahıl Küspesi, Dried Distilled Grain Soluble) eklenerek yağ oranı artırıldığında kan kolesterol seviyesi yükselmiştir. Araştırmacıların bildirdiğine göre kanda kolesterol seviyesinin yükselmesi hem 260 günlük yaştan daha erken dönemde (sayısal olarak, $p>0.05$) hem de 300 kg canlı ağırlığın altındaki düvelerde (istatistiksel olarak, $p<0.05$) ovaryumlarda sıklık aktivitenin başlamasına katkıda bulunmakta, pubertasa erişme çağını da istatistik olarak düşürmektedir.

Pubertasa ulaşma çağı öncesinde yüksek oranda lizin ve metiyonin içeren bir rasyonla beslenen düvelerde kanda seviyesi değişen diğer bir parametre de TP'dir. Uygulama grubundaki düvelerde tohumlama döneminde kanda TP seviyesi yükselmiştir ($p<0.05$). Kan total proteinin rasyona bağlı en önemli kaynakları rumen fermentasyonundan korunarak ince bağırsağa ulaşan protein ve rumende mikrobiyal fermentasyonla amonyağa kadar parçalanan azot kaynaklarının kullanılması ile sentezlenen mikrobiyal proteindir. Ancak mikrobiyal protein sentezi sırasında rasyondaki azotun bir kısmı rumen duvarından emilmek suretiyle mikrobiyal protein sentezinde kullanılamamakta olduğu için rasyondaki protein düzeyi ile kandaki TP düzeyi arasında direkt olarak bir ilişki kurabilmek imkansızdır (Tomlinson ve ark 1997). Rumende mikrobiyal protein sentezinden kaçarak rumen duvarından emilen ve karaciğere gelen azot kaynakları

burada üreye dönüştürülür ve kan dolaşımına gönderilir. Dolayısıyla rasyondaki proteinin bir yararlanımı ve kan TP üzerine etkisi ele alınırken kandaki BUN seviyesi de mutlak suretle dikkate alınmalıdır. Kanda TP düzeyinin düşük olmasının bir diğer nedeni de anabolizma reaksiyonları olabilir. Büyüme ve gelişme çağındaki hayvanların kan total protein düzeyi aynı türün erişkin bireylerine göre daha düşük bulunmaktadır (Doornenbal ve ark. 1988). Bunun temel sebebi olarak kas yapımındaki artış gösterilmektedir. Yapılan bu çalışmada tohumlama zamanında her iki grupta benzer kan BUN seviyesi olmasına karşın uygulama grubunda TP seviyesinin düşük olması, uygulama grubundaki hayvanlarda daha fazla kas dokusu üretilmesine bağlı olabilir. Daha net bir açıklama yapılabilmesi için gruplardaki hayvanların günlük canlı ağırlık artışı verilerine ihtiyaç duyulmaktadır.

SONUÇ

Bu çalışmada prepubertastan itibaren Holştayn ırkı sütçü karakterdeki düvelerin rasyonlarının lizin ve metiyonince zenginleştirilmesinin kandaki majör enerji parametreleri olan NEFA, BHBA ve glukoz üzerine önemli bir etkisinin bulunmadığı, ancak önemli bir döl verimi parametresi olan kolesterol seviyesini artırdığı, total protein seviyesini ise azalttığı belirlenmiştir. BUN seviyesi sabit olduğu için total protein seviyesindeki azalma anabolik reaksiyonların arttığı izlenimi oluşturmuştur. Ayrıca çalışmanın önemli sonuçlarından birisi de sütçü düvelerin pubertas çağına ulaştıklarında hafif düzeyde de olsa negatif enerji dengesinin etkisi altına girdikleri, gebe kaldıklarında bu etkinin ortadan kalkması durumudur. Buna sebep olan etkenlerin daha detaylı bir şekilde ortaya koyulabilmesi, tohumlama çağındaki hayvanlarda kan kolesterol seviyesinin yükselip protein seviyesinin düşmesinin hayvanlarda sağlık ve döl verimi parametreleri üzerine ne şekilde ve düzeyde etki edeceğini belirleyebilmek adına daha kapsamlı çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Çıkar çatışması: Yazarlar bu yazı için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Yazarların Katkı Oranı: Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan etmişlerdir.

Etik izin: Bu çalışma ÇOMU HADYEK 2021/03-07 numara ve 06.04.2021 tarih ile izin alınmıştır.

Teşekkür: Bu çalışmada desteklerini veren Sn. Suat Sarıbrahimoğlu ve Kaanlar Tarım ve Hayvancılık İşletmesi'ne teşekkürlerimizi sunarız.

KAYNAKLAR

- Anderson JL, Kalscheur KF, Clapper JA, Perry GA, Keisler DH, Garcia AD, Schingoethe, DJ.** Feeding fat from distillers dried grains with solubles to dairy heifers: II. Effects on metabolic profile. *Journal of Dairy Science*. 2015; 98(8), 5709-5719.
- Bauman DE, Currie WB.** Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: A review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J. Dairy Sci*. 1980; 63:1514–1529.
- Bouyeh, M., Gevorgyan, OK.** Influence of excess lysine and methionine on cholesterol, fat and performance of broiler chicks. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 2011; 10(12), 1546-1550.
- Brickell JS, McGowan MM, Wathes DC.** Effect of management factors and blood metabolites during the rearing period on growth in dairy heifers on UK farms. *Domestic animal endocrinology*. 2009. 36(2), 67-81.
- Butera, P. C., R. J. Beikirch.** Central implants of diluted estradiol: Independent effects on ingestive and reproductive behaviours of ovariectomized rats. *Brain Res*. 1989. 491:266–273.
- Chelikani PK, Ambrose JD, Keisler DH, Kennelly JJ.** Effect of short-term fasting on plasma concentrations of leptin and other hormones and metabolites in dairy cattle. *Domest Anim Endocrinol*. 2004; 26:33–48.
- Civelek, T., Birdane, F., Kabu, M., Cingı, C. Ç., & Acar, A.** Effects of methionine and lysine on metabolic profile in dairy cattle during periparturient period. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 2013. 19(3), 423-432.
- Diskin MG, Sreenan JM.** Expression and detection of oestrus in cattle. *Reproduction Nutrition Development*. 2000; 40, 481–491.
- Doornenbal, H, Tong AK, Murray NL.** Reference values of blood parameters in beef cattle of different ages and stages of lactation. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 1988; 52(1), 99.
- Drackley JK, Overton TR, Douglas NG.** Adaptations of glucose and long chain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during the periparturient period. *J. Dairy Sci*. 2001; 84(E Suppl.):E100–E112.
- Duffield, T.** Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2000; 16(2), 231-253.
- Ettema JF., Santos JE.** Impact of age at calving on lactation, reproduction, health, and income in first-parity Holsteins on commercial farms. *J Dairy Sci* 2004; 87:2730–42.
- Foldager, J, Sejrsen K.** Research in Cattle Production Danish Status and Perspectives. Mammary Gland Development and Milk Production in Dairy Cows in Relation to Feeding and Hormone Manipulation During Rearing. 1987; Landhusholdningselskabets Forlag, Tryk, Denmark.
- Forbes, J.M.** The effects of sex hormones, pregnancy, and lactation on digestion, metabolism, and voluntary food intake. 1986. Pages 420–435 in *Control of Digestion and Metabolism in Ruminants*. L. P. Milligan, W. L. Grovum, and A. Dobson, ed. Prentice- Hall, Englewood Cliffs, NJ.
- Funston RN., JL Martin, Larson DM, Roberts AJ.** Physiology and endocrinology symposium: Nutritional aspects of developing replacement heifers. *J. Anim. Sci*. 2012; 90:1166–1171.
- Gardner RW, Schum JD, Vargus LG.** Accelerated growth and early breeding of Holstein heifers. *J. Dairy Sci*. 1977; 60:1941–1948.
- Giroux I, Kurowska, EM, Carroll KK.** Role of dietary lysine, methionine, and arginine in the regulation of hypercholesterolemia in rabbits. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 1999; 10(3), 166-171.
- Gordon, J.** Risk factors for and treatment of ketosis in lactating dairy cattle (Doctoral dissertation, University of Guelph). 2013. <https://atrium.lib.uoguelph.ca/xmlui/handle/10214/7297>
- Greenwood P, Hunt A, Slepatis R, Finnerty K, Alston C, Beermann D.** Effects of birth weight and postnatal nutrition on neonatal sheep. III. Regulation of energy metabolism. *J Anim Sci* 2002; 80:2850–61.
- Gross, J., van Dorland, H. A., Bruckmaier, R. M., Schwarz, F. J.** Performance and metabolic profile of dairy cows during a lactational and deliberately induced negative energy balance with subsequent realimentation. *Journal of dairy science*. 2011, 94(4), 1820-1830.
- Grummer, R. R., S. J. Bertics, D. W. LaCount, J. A. Snow, M. R. Dentine, R. H. Stauffacher.** Estrogen induction of fatty liver in dairy cattle. *J. Dairy Sci*. 1990. 73:1537–1543.
- Hossein-Zadeh NG, Ardalan M.** Estimation of genetic parameters for milk urea nitrogen and its relationship with milk constituents in Iranian Holsteins. *Livestock Science*. 2011; 135, 274–281.
- Hurnik JF, King GJ, Robertson HA.** Estrous and related behaviour in postpartum Holstein cows. *Applied Animal Ethology*. 1975; 2, 55–68.
- Keown JF, Everett RW.** Effect of days carried calf, days dry, and weight of first calf heifers on yield. *J Dairy Sci* 1986; 69:1891–6.
- Kröber, T. F., Kreuzer, M., Senn, M., Langhans, W., & Sutter, F.** Lactational and metabolic effects in cows of lysine and methionine added to a ration deficient according to the INRA method. *Archives of Animal Nutrition*, 2000. 53(4), 375-394.
- Little W, Kay. RM.** The effects of rapid rearing and early calving on the subsequent performance of dairy heifers. *Anim. Prod.*; 1979; 29:131–142.
- National Research Council,** Nutrient Requirements of Poultry (9th rev. ed.), National Academy Press, Washington, DC.1994

- National Research Council**, Nutrient requirements of dairy cattle), National Academy Press, Washington, DC. 2001
- Ospina PA., Nydam, DV, Stokol T, Overton TR.** Evaluation of nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases. *Journal of dairy science*, 2010. 93(2), 546-554.
- Pinotti, L., Baldi, A., Dell'Orto, V.** Comparative mammalian choline metabolism with emphasis on the high yielding dairy cow. *Nutr Res Rev.* 2002. 15: 315-332. doi: 10.1079/NRR200247
- Perry, G. A.** Harnessing basic knowledge of factors controlling puberty to improve synchronization of estrus and fertility in heifers. *J. Anim. Sci.* 2012; 90:1172–1182.
- Place NT, Heinrichs AJ, Erb HN.** The effects of disease, management, and nutrition on average daily gain of dairy heifers from birth to four months. *J Dairy Sci* 1998,81:1004–9.
- Reith S, Pries, M, Verhülsdonk C, Brandt H, Hoy S.** Influence of estrus on dry matter intake, water intake and BW of dairy cows. *Animal.* 2014; 8(5), 748-753.
- Roberts T, Chapinal N, LeBlanc SJ, Kelton DF, Dubuc J, Duffield, TF.** Metabolic parameters in transition cows as indicators for early-lactation culling risk. *Journal of dairy science.* 2012; 95(6), 3057-3063.
- Smith JM, Van Amburgh ME, Diaz MC, Lucy MC, Bauman DE.** Effect of nutrient intake on the development of the somatotrophic axis and its responsiveness to GH in Holstein bull calves. *J Anim Sci* 2002,80:1528–37.
- Swali A, Cheng Z, Bourne N, Wathes DC.** Metabolic traits affecting growth rates of pre-pubertal calves and their relationship with subsequent survival. *Domest Anim Endocrinol* 2008,35:300–13.
- Swanson, EW.** Effect of rapid growth with fattening of dairy heifers on their lactational ability. *J. Dairy Sci.* 1960; 43: 377–387.
- Talavera F, Park CS, Williams GL.** Relationships among dietary lipid intake, serum cholesterol and ovarian function in Holstein heifers. *J. Anim. Sci.* 1985; 60:1045–1051.
- Taylor VJ, Beever DE, Bryant MJ, Wathes DC.** First lactation ovarian function in dairy heifers in relation to prepubertal metabolic profiles. *J Endocrinol* 2004,180:63–75.
- Terre M, Devant M, Bach A.** Performance and nitrogen metabolism of calves fed conventionally or following an enhanced-growth feeding program during the preweaning period. *Livestock Sci.* 2006;105:109–19.
- Tomlinson, DL, James RE, Bethard, GL, McGilliard, ML.** Influence of undegradability of protein in the diet on intake, daily gain, feed efficiency, and body composition of Holstein heifers. *Journal of Dairy Science.* 1997; 80(5), 943-948.
- Van Amburgh, ME, Galton DM, Bauman DE, Everett, RW, Fox DG, Chase LE, Erb, HN.** Effects of three prepubertal body growth rates on performance of Holstein heifers during first lactation. *Journal of dairy science.* 1998; 81(2), 527-538.