



УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Департман за ветеринарску медицину



Мр сц. вет. мед. Сњежана Тројачанец

**УТИЦАЈ β – КАРОТИНА НА ЗДРАВСТВЕНИ СТАТУС КРАВА С
ПОСЕБНИМ ОСВРТОМ НА ОВАРИЈАЛНУ АКТИВНОСТ**

Докторска дисертација

Нови Сад, 2013.

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације:

1. Др Станко Бобош, редовни професор, (ментор)

за ужу научну област болести животиња и хигијена анималних производа

Пољопривредни факултет, Нови Сад

Департман за ветеринарску медицину

(потпис)

2. Др Благоје Станчић, редовни професор, (председник)

за ужу научну област репродукција животиња

Пољопривредни факултет, Нови Сад

Департман за ветеринарску медицину

(потпис)

3. Др Младен Гагрчин, редовни професор, (члан)

за ужу научну област болести животиња и хигијена анималних производа

Пољопривредни факултет, Нови Сад

Департман за ветеринарску медицину

(потпис)

4. Др Зоран Машић, научни саветник, (члан)

за ужу научну област исхрана домаћих животиња

Научни институт за ветеринарство "Нови Сад", Нови Сад

(потпис)

5. Др Тони Довенски, редовни професор, (члан)

за ужу научну област репродукција животиња

Факултет за ветеринарску медицину, Скопље

(потпис)

УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈАСКА ИНФОРМАЦИЈА

Редни број: РБР	
Идентификациони број: ИБР	
Тип документације: ТД	Монографска документација
Тип записа: ТЗ	Текстуални штампани материјал
Врста рада: ВР	Докторска дисертација
Име и презиме аутора: АУ	Мр Сњежана Тројачанец
Ментор: МН	Др Станко Бобош, редовни професор
Наслов рада: НР	Утицај β-каротина на здравствени статус крава с посебним освртом на оваријалну активност
Језик публикације: ЈП	Српски
Језик извода: ЈИ	Српски / Енглески
Земља публикавања: ЗП	Србија
Уже географско подручје: УГП	Војводина
Година: ГО	2013.
Издавач: ИЗ	Ауторски репринт
Место и адреса: МА	Нови Сад, Трг Доситеја Обрадовића 8
Физички опис рада: ФО	8 поглавља / 103 стране / 222 референце / 15 табела / 9 графикана / 8 слика
Научна област: НО	Ветеринарска медицина
Научна дисциплина НД	Репродукција и физиологија животиња
Кључне речи: КР	β-каротин, витамин А, неплодност, млечне краве
УДК:	636.09:613.287.5(043.3)
Чува се (ЧУ):	Библиотека Пољопривредног факултета, Нови Сад
Важна напомена (ВН):	Нема

Извод (ИЗ):

У раду је главни циљ истраживања био да се утврди утицај додатог β -каротина и витамина А на оваријалну активност у току перивулаторног периода код млечних крава са хроничним функционалним стерилитетом. За потребе овог истраживања одабрано је 46 негравидних крава расе Холштајн (Holstein) са функционалним стерилитетом, старости од 5-7 година. Животиње су подељене у три експерименталне групе, са комбинацијом β -каротина и витамина А, само β -каротина и само витамина А. Контролну групу сачињавале су краве без додатне терапије. Свим животињама на почетку истраживања извршен је гинеколошки преглед, синхронизација еструса и вештачко осемењавање. Мерен је почетни ниво β -каротина у крви, ниво у време оплодње и током лутеинске фазе, затим жуто тело (corpus luteum) и ниво P_4 као и проценат концепције.

Резултати су показали постојање средње корелације $r = 0,4$ ($p < 0,01$) и $r = 0,36$ ($p < 0,05$) између иницијалне серумске концентрације β -каротина и концентрација β -каротина на дан овулације и у лутеалној фази, висок степен корелације између вредности β -каротина на дан овулације и у лутеалној фази $r = 0,83$ ($p < 0,01$). Исто тако, резултати нису показали сигнификантну разлику у величини фоликула у групи са додатком β -каротина и витамина А и контролној групи. Међутим, постоје значајне разлике између група са додатком β -каротина и витамина А, витамина А и контролне групе. Позитивну корелацију налазимо између серумске концентрације β -каротина током оплодње и концентрације прогестерона $r = 0,33$ ($p < 0,05$), као и процента концепције $r = 0,39$ ($p < 0,01$), те између серумске концентрације β -каротина 7. дана (у лутеалној фази) и концентрације прогестерона $r = 0,51$ ($p < 0,01$).

Из анализе узајамне повезаности неопходно је да се истакну и корелације између дијаметара предовулаторних фоликула и процента правовремених овулација и концентрације естрадиола ($r = 0,74$; $p < 0,01$ и $r = 0,57$; $p < 0,01$). Исто тако, утврђена је корелација између концентрације естрадиола и концентрације прогестерона $r = 0,39$ ($p < 0,05$), као и висока корелација између величине функционалног жутог тела и концентрације прогестерона $r = 0,82$ ($p < 0,01$).

Да би се остварио пуни потенцијал овог истраживања у пракси, неопходна су даља истраживања као и бољи менаџмент производње сточне хране и генерално исхране, на фармама млечних крава.

Датум прихватања теме од стране НН већа:

ДП 01.04.2011. године

Датум одбране: _____

ДО

Чланови комисије:

КО

др Станко Бобош, редовни професор, (ментор)
Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду
Научна област: Болести животиња и хигијена анималних
производа

др Благоје Станчић, редовни професор, (члан)
Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду
Научна област: Репродукција животиња

др Младен Гагрчин, редовни професор, (члан)
Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду
Научна област: Болести животиња и хигијена анималних
производа

др Зоран Машић, научни саветник, (члан)
Научни институт за ветеринарство "Нови Сад", Нови Сад
Научна област: Исхрана домаћих животиња

др Тони Довенски, редовни професор, (члан)
Факултет ветеринарске медицине, УКИМ, Скопље
Научна област: Репродукција животиња

**UNIVERSITY OF NOVI SAD
FACULTY OF AGRICULTURE**

KEY WORD DOCUMENTATION

Accession number:
ANO
Identification number:
INO
Document type: Monograph type
DT
Type of record: Printed text
TR
Contents code: PhD. Thesis
CC
Author: Snježana Trojačanec, M.Sc.
AU
Mentor: Stanko Boboš, PhD, full professor
MN
Title: Influence of β - carotene on the health status of dairy
TI cows with special focus on ovarian activity
Language of text: Serbian
LT
Language of abstract: Serbian / English
LA
Country of publication: Republic of Serbia
CP
Locality of publication: AP Vojvodina
LP
Publication year: 2013.
PY
Publisher: Author's reprint
PU
Publ. Place: Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 8
PP
Physical description: 8 chapters / 103 pages / 222 references / 15 tables/
PD 9 graphs / 8 images
Scientific field: Veterinary medicine
SF
Scientific discipline: Reproduction and Phisiology
SD
Key words: β -carotene, Vitamin A, infertility, dairy cows
KW
Universal decimal classification: 636.09:613.287.5(043.3)
UDC
Holding data(HD): The Library of the Faculty of Agriculture, Novi Sad
Note (N): None

Abstract (AB):

The aim of this study was to determine the influence of supplemented β -carotene and vitamin A on the ovarian activity during the periovulatory period in dairy cows with chronic fertility impairment. A total of 46 non pregnant Holstein cows with fertility impairment, at the age of 5-7 years, were selected for this study. The animals in three experimental groups were supplemented with either a combination of β -carotene and vitamin A, β -carotene only or vitamin A only. Non supplemented animals served as controls. All animals included in the survey were gynecologically examined; the estrus was synchronized and inseminated. Initial blood levels of β -carotene as well as the levels at the time of insemination and in the luteal phase as well as the ovarian structures during ovulation and formation of corpus luteum and P₄ and conception rate, were monitored.

The results have shown an existence of medium correlation $r = 0,4$ ($p < 0,01$) and $r = 0,36$ ($p < 0,05$) between the initial serum concentration of β -carotene and the concentration of β -carotene on the day of ovulation, and on the luteal phase, high degree of correlation between the value of β -carotene on the day of ovulation, and in the luteal phase $r = 0,83$ ($p < 0,01$). Besides, the results haven't shown a significant difference in the size of the follicle in the group with added β -carotene and vitamin A, and the control group. However, there are significant differences between the groups with added β -carotene and vitamin A, vitamin A, and the control group. There is a positive correlation between the serum concentrations of β -carotene during fertilization, and the concentration of progesterone $r = 0,33$ ($p < 0,05$), the same as the percentage of conception $r = 0,39$ ($p < 0,01$); and between serum concentration of β -carotene on the 7th day (in the luteal phase) and the concentration of progesterone $r = 0,51$ ($p < 0,01$).

From the mutually connected analyzes the correlation between the diameters of the pre ovulation follicles and the percentage of the on time ovulations and the concentration of estradiol ($r = 0,74$; $p < 0,01$ и $r = 0,57$; $p < 0,01$ respectively), is also important to be emphasized. Besides, the correlation between estradiol concentration and progesterone concentration $r = 0,39$ ($p < 0,05$) was determined, as the high correlation between the size of the functional yellow body and the progesterone concentrations $r = 0,82$ ($p < 0,01$).

For the fulfillment of this research's potential in practice, further research is necessary, as well as better management of the fodder and the feeding in general on the farms with milk cows.

Accepted by the Scientific
Board on:

ASB

April, 04th, 2011

Defended on:

DE

Stanko Boboš, PhD, full professor, (Mentor)
Faculty of Agriculture, University of Novi Sad
Scientific discipline: Animal diseases and hygiene of animal
production

Blagoje Stančić, PhD, full professor, (Member)
Faculty of Agriculture, University of Novi Sad
Scientific discipline: Animal Reproduction

Thesis Defense board:
DB

Mladen Gagrčin, PhD, full professor, (Member)
Faculty of Agriculture, University of Novi Sad
Scientific discipline: Animal diseases and hygiene of animal
production

Zoran Mašić, PhD, Principal Research Fellow, (Member)
Scientific Veterinary Institute "Novi Sad", Novi Sad
Scientific discipline: Nutrition of Domestic Animal

Toni Dovenski, PhD, full professor, (Member)
Faculty of Veterinary Medicine, UKIM, Skopje
Scientific discipline: Animal Reproduction

УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
POLJOPRIVREDNI FAKULTET
Департаман за ветеринарску медицину
ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА
Поднета 2011. године

УТИЦАЈ β – КАРОТИНА НА ЗДРАВСТВЕНИ СТАТУС КРАВА С ПОСЕБНИМ ОСВРТОМ НА ОВАРИЈАЛНУ АКТИВНОСТ

Кратак садржај

У раду је главни циљ истраживања био да се утврди утицај додатог β -каротина и витамина А на оваријалну активност у току периовулаторног периода код млечних крава са хроничним функционалним стерилитетом. За потребе овог истраживања одабрано је 46 негравидних крава расе Холштајн (Holstein) са функционалним стерилитетом, старости од 5-7 година. Животиње су подељене у три експерименталне групе, са комбинацијом β -каротина и витамина А, само β -каротина и само витамина А. Контролну групу сачињавале су краве без додатне терапије. Свим животињама на почетку истраживања извршен је гинеколошки преглед, синхронизација еструса и вештачко осемењавање. Мерен је почетни ниво β -каротина у крви, ниво у време оплодње и током лутеинске фазе, затим жуто тело (corpus luteum) и ниво прогестерона као и проценат концепције.

Резултати су показали постојање средње корелације $r = 0,4$ ($p < 0,01$) и $r = 0,36$ ($p < 0,05$) између иницијалне серумске концентрације β -каротина и концентрација β -каротина на дан овулације и у лутеалној фази, висок степен корелације између вредности β -каротина на дан овулације и у лутеалној фази $r = 0,83$ ($p < 0,01$). Исто тако, резултати нису показали сигнификантну разлику у величини фоликула у групи са додатком β -каротина и витамина А и контролној групи. Међутим, постоје значајне разлике између група са додатком β -каротина и витамина А, витамина А и контролне групе. Позитивну корелацију налазимо између серумске концентрације β -каротина током оплодње и концентрације прогестерона $r = 0,33$ ($p < 0,05$), као и процента концепције $r = 0,39$ ($p < 0,01$), те између серумске концентрације β -каротина 7. дана (у лутеалној фази) и концентрације прогестерона $r = 0,51$ ($p < 0,01$).

Из анализе узајамне повезаности, неопходно је да се истакну и корелације између дијаметара предовулаторних фоликула и процента правовремених овулација и концентрације естрадиола ($r = 0,74$; $p < 0,01$ и $r = 0,57$; $p < 0,01$). Исто тако, утврђена је корелација између концентрације естрадиола и концентрације прогестерона $r = 0,39$ ($p < 0,05$), као и висока корелација између величине функционалног жутог тела и концентрације прогестерона $r = 0,82$ ($p < 0,01$).

Да би се остварио пуни потенцијал овог истраживања у пракси, неопходна су даља истраживања као и бољи менаџмент производње сточне хране и генерално исхране, на фармама млечних крава.

Кључне речи: β -каротин, витамин А, неплодност, млечне краве

Докторска дисертација је одложена у библиотеци Пољопривредног факултета у Новом Саду (дисертација садржи 103 страна, 15 табела, 9 графикана, 8 слика, 222 референце, оригинал на српском језику и кратак садржај на енглеском језику)

UNIVERSITY OF NOVI SAD
FACULTY OF AGRICULTURE
Department of Veterinary Medicine
DOCTORAL DISSERTATION
 Submitted in 2011.

INFLUENCE OF β – CAROTENE ON THE HEALTH STATUS OF DAIRY COWS WITH SPECIAL FOCUS ON OVARIAN ACTIVITY

Abstract

The aim of this study was to determine the influence of supplemented β -carotene and vitamin A on the ovarian activity during the periovulatory period in dairy cows with chronic fertility impairment. A total of 46 non pregnant Holstein cows with fertility impairment, at the age of 5-7 years, were selected for this study. The animals in three experimental groups were supplemented with either a combination of β -carotene and vitamin A, β -carotene only or vitamin A only. Non supplemented animals served as controls. All animals included in the survey were gynecologically examined; the estrus was synchronized and inseminated. Initial blood levels of β -carotene as well as the levels at the time of insemination and in the luteal phase as well as the ovarian structures during ovulation and formation of corpus luteum and P_4 and conception rate, were monitored.

The results have shown an existence of medium correlation $r = 0,4$ ($p < 0,01$) and $r = 0,36$ ($p < 0,05$) between the initial serum concentration of β -carotene and the concentration of β -carotene on the day of ovulation, and on the luteal phase, high degree of correlation between the value of β -carotene on the day of ovulation, and in the luteal phase $r = 0,83$ ($p < 0,01$). Besides, the results haven't shown a significant difference in the size of the follicle in the group with added β -carotene and vitamin A, and the control group. However, there are significant differences between the groups with added β -carotene and vitamin A, vitamin A, and the control group. There is a positive correlation between the serum concentrations of β -carotene during fertilization, and the concentration of progesterone $r = 0,33$ ($p < 0,05$), the same as the percentage of conception $r = 0,39$ ($p < 0,01$); and between serum concentration of β -carotene on the 7th day (in the luteal phase) and the concentration of progesterone $r = 0,51$ ($p < 0,01$).

From the mutually connected analyzes the correlation between the diameters of the pre ovulation follicles and the percentage of the on time ovulations and the concentration of estradiol ($r = 0,74$; $p < 0,01$ и $r = 0,57$; $p < 0,01$ respectively), is also important to be emphasized. Besides, the correlation between estradiol concentration and progesterone concentration $r = 0,39$ ($p < 0,05$) was determined, as the high correlation between the size of the functional yellow body and the progesterone concentrations $r = 0,82$ ($p < 0,01$).

For the fulfillment of this research's potential in practice, further research is necessary, as well as better management of the fodder and the feeding in general on the farms with milk cows.

Key word: β -carotene, Vitamin A, infertility, dairy cows

Doctoral dissertation is deposited in the Library of the Faculty of Agriculture in Novi Sad (the dissertation has 103 pages, 8 chapters, 15 tables, 9 graphs, 8 images, 222 references, the original in Serbian language and its abstract in English)

Захвалност

Израда ове докторске дисертације омогућена је захваљујући појединцима и институцијама.

Највећу захвалност дугујем свом ментору проф. др. Станку Бобошу за сву подршку, веру и ентузијазам које ми је несебично пружао током наше сарадње.

Проф. др. Тони Довенски је био самном од почетка до краја, зато му захваљујем на свој помоћи, сугестијама, поверењу, и непроцењивим професионалним и животним саветима током наше дугогодишње сарадње.

Захваљујем се и проф др Благоју Станчићу, проф. др Младену Гагрчину и проф. др Зорану Машићу који су као чланови комисије за оцену и одбрану ове докторске дисертације дали корисне савете и учествовали у њеној реализацији.

Велико хвала мом драгом пријатељу и колеги, проф. др. Сретену Андонову, за непроцењиву помоћ у статистичкој обради података.

Захвалност дугујем и свим колегама и појединцима који су на различите начине били укључени у поједине фазе овог истраживања.

Највећу захвалност ипак дугујем мом супругу, Пламену, који ме је бодрио и давао несебичну помоћ и подршку, као и мојим синовима и родитељима којима посвећујем ову дисертацију.

Садржај

1.	УВОД.....	1
2.	ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ.....	5
2.1.	Витамин А, каротиноиди и β каротин.....	6
2.1.1.	Увод.....	6
2.1.2.	Заступљеност у природи.....	7
2.1.2.1.	Заступљеност у сточној храни.....	8
2.1.3.	Искоришћавање β -каротина код домаћих животиња.....	9
2.1.4.	Потребе за β -каротином код млечних крава.....	10
2.1.5.	Потребе за витамином А.....	12
2.1.6.	Ресорпција β -каротина после оралног уноса.....	13
2.1.6.1.	Разлике код појединих видова животиња.....	13
2.1.6.2.	Ресорпција β -каротина код говеда.....	13
2.1.7.	Транспорт у телу после оралног уноса.....	14
2.1.7.1.	Транспорт у крви.....	14
2.1.7.2.	Улазак у ћелије.....	15
2.1.7.3.	β -каротин у вимену и фоликулима.....	15
2.1.8.	Дистрибуција β -каротина ткивима и млеку.....	16
2.1.8.1.	Плазма и масно ткиво.....	16
2.1.8.2.	Јетра.....	16
2.1.8.3.	Млеко.....	17
2.1.9.	Апсорпција после парентералне администрације.....	18
2.2.	β -каротин у крви.....	19
2.2.1.	Дијагностички тестови.....	19
2.2.2.	Ниво β -каротина у крви код млечних крава.....	19
2.2.2.1.	Индивидуалне варијације.....	21
2.2.2.2.	Ниво β -каротина у перипартлном периоду.....	21
2.3.	β -каротин као провитамин А.....	22
2.3.1.	Метаболизам витамина А.....	22
2.3.2.	Неке функције витамина А у организму.....	23
2.4.	β -каротин и плодност.....	24
2.4.1.	Параметри плодности повезани са β -каротином.....	24
2.4.2.	β -каротин и гравидитет.....	27
2.4.3.	β -каротин и ретенција плаценте.....	28
2.4.4.	β -каротин и јајници.....	28
2.4.4.1.	Основна сазнања.....	28
2.4.4.2.	Присуство β -каротина у јајницима.....	29
2.4.4.3.	Оваријалне цисте.....	29
2.4.4.4.	Ниво β -каротина у јајнику и продукција прогестерона.....	30
2.4.5.	Ниво β -каротина у крви и продукција прогестерона.....	31

2.4.6. β-каротин у ћелији.....	32
2.4.7. Функције β-каротина у јајнику независне од витамина А.....	33
2.4.8. β-каротин као локалан извор витамина А у јајнику.....	34
2.5. β-каротин и имунолошки систем.....	35
2.6. Допунски фактори који утичу на плодност говеда.....	36
2.6.1. Енергија.....	36
2.6.2. Протеини.....	38
2.6.3. Минерали.....	38
2.6.4. Микроелементи.....	39
2.6.5. Витамини.....	40
2.6.6. Микотоксини.....	40
3. ЦИЉЕВИ ДИСЕРТАЦИЈЕ.....	41
4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ.....	44
4.1. Услови гајења и исхрана.....	45
4.2. Експериментални дизајн.....	49
4.2.1. Гинеколошки преглед.....	49
4.2.2. Третман.....	51
4.2.3. Скупљање података и материјала за анализу.....	53
4.2.4. Испитивање серумске концентрације β каротина.....	54
4.2.5. Испитивање серум. конц.оваријалних стероидних хормона.....	55
4.3. Статистичка обрада података.....	56
5. РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА.....	57
6. ДИСКУСИЈА.....	72
7. ЗАКЉУЧЦИ.....	82
8. ЛИТЕРАТУРА.....	85

Листа табела

Табела 1. Садржај β -каротина у разним видовима сточне хране изражена у мг/кг свеже масе (извор Kolb 1998).....	8
Табела 2. Потребе за β -каротином код млечних крава.....	11
Табела 3. Потребе за витамином А код млечних крава.....	12
Табела 4. Референтне вредности концентрација β -каротина у серуму млечних крава ($\mu\text{г/л}$).....	20
Табела 5. Хемијски састав сточне хране (%).....	47
Табела 6. Микробиолошки састав сточне хране.....	47
Табела 7. Просечне вредности серумских концентрација β -каротина у истраживању на дан овулације код синхронизованих грла.....	58
Табела 8. Просечне вредности димензија предовулаторних фоликула на дан овулације код синхронизованих грла у истраживању.....	60
Табела 9. Просечне вредности естрадиола у плазми у перивулаторном периоду код синхронизованих грла у истраживању.....	61
Табела 10. Просечне вредности серумских концентрација β -каротина у лутеалном периоду код синхронизованих грла у истраживању.....	63
Табела 11. Просечан дијаметар дијагностикованих функционалних жutih тела у лутеалном периоду (Д11)	66
Табела 12. Просечне вредности концентрације прогестерона у плазми у лутеалном периоду код крава са дијагностикованим функционалним жутим телом	67
Табела 13. Pearson–ова корелацијска анализа укупних резултата појединих параметара добивених у истраживању	70
Табела 14. Просечна укупна производња млека код крава с обзиром на дужину лактације.....	71
Табела 15. Просечна производња млека код крава сведена на просечну стандардну лактацију (305 дана).....	71

Листа графикана

Графикон 1. Дистрибуција оцена за телесну кондицију (BSC) у популацији крава, укључених у истраживање	48
Графикон 2. Дистрибуција концентрација серумског β -каротина, између група у фази овулације (D4)	59
Графикон 3. Процент овулације код појединих група животиња у периоду између 72 и 96 сати	62
Графикон 4. Дистрибуција концентрација серумског β -каротина, између група у лутеалној фази (D11).....	64
Графикон 5. Динамика дистрибуције концентрација серумског β -каротина у периодима синхронизације еструса (D0), овулације (D4) и лутеалне фазе (D11)	64
Графикон 6. Разлике у просечним димензијама жутих тела код појединих група)	66
Графикон 7. Просечне вредности дијаметра дијагностикованих жутих тела код гравидних и негравидних животиња	67
Графикон 8. Дистрибуција плазмених концентрација прогестерона у лутеалном периоду у појединим групама	68
Графикон 9. Степен концепције 30 дана после осемењавања	69

Листа слика

Слика 1. Структурне формуле β -каротина и витамина А.....	7
Слика 2. Услови држања крава које су биле укључене у истраживање.....	45
Слика 3. Исхрана крава укључених у истраживање	46
Слика 4. Изглед балираног сена од луцерке.....	46
Слика 5. Сонограми јајника у периовулатором периоду – видљиви су фоликули са различитом димензијом.....	60
Слика 6. Сонограми јајника 96 сати после апликације простагландина – видљиви су предовулаторан фоликул (десно) и corpus haemorrhagicum (лево)	62
Слика 7. Сонограми јајника 7 дана после овулације – видљива су функционална жута тела са или без централне празнине (cavum)...	65
Слика 8. Сонограми гравидних утеруса приближно 30 дана после осемењавања	68

Листа скраћеница

IJ	Интернационалне јединице
hCG	Хумани хорионски гонадотропин (human chorionic gonadotropin)
NRC	National Research Council
VLDL	Липопотеини са веома малом густином (Very low-density lipoprotein)
LDL	Липопотеини са малом густином (Low-density lipoprotein)
HDL	Липопотеини са великом густином (High-density lipoprotein)
LX	Лутеинизирајући хормон
GnRH	Гонадотропин ослобађајући хормон (Gonadotropin-releasing hormone)
HPLC	Течна хроматографија са високим притиском (high pressure liquid chromatography)
PGF_{2α}	Простагландин F _{2α}
кг	Килограм
i.m.	Интрамускуларно

1. Увод

Каротиноиди су органски пигменти које у природи налазимо у хлоропластима и хромопластима биљних ћелија и неких других фотосинтетских организама (алге, неки типови гљивица и бактерија). У природи се јавља више од 600 каротиноида који су подељени у две групе – ксантофили и каротини. Каротиноиди у биљкама и алгама имају две главне улоге: апсорбују светлосну енергију, за потребе фотосинтезе и штите хлорофил од фотодеструкције.

Код фотосинтетских организама, каротиноиди имају виталну улогу у процесима трансфера енергије, а исто тако, служе за заштиту од аутооксидације, а код нефотосинтетских организама (човек и животиње), каротиноиди се повезују са антиоксидационим механизмима. Каротиноиди представљају „чистаче” слободних радикала и истовремено подржавају имунолошки систем код кичмењака.

Више од 40 каротиноида има провитаминску активност, ипак, само четири биљна каротиноида (β -каротин, α -каротин, γ -каротин и β -криптоксантин) има А-провитаминску активност (могу да се конвертују у ретинал), а уједно делују и као антиоксиданси код човека и животиња.

β -каротин је део групе високо пигментираних (црвен, наранџаст и жут пигмент) каротиноида који је као липосолубилно једињење, присутан у већини биљака. Будући да човек и животиње немогу да синтетишу β -каротин, биљке су његов главни извор за задовољавање основних нутритивних потреба.

Животиње задовољавају своје базичне нутритивне потребе за енергијом, витаминима и минералима путем уношења зелене хране, у природним условима за време паше. Супротно од тога, у интензивном систему производње млека, исхрана животиња је под директним утицајем и контролом човека. У нормалним околностима, говеда конзумирањем свеже зелене хране задовољавају дневне потребе за каротиноидима. Ипак, присуство β -каротина у дневним оброцима

млечних крава зависи од више фактора – система узгоја, квантитета и квалитета кабастог дела оброка.

Квалитет кабастог дела оброка, зависи од више фактора, од којих за потребе ове студије, посебно су значајни квалитет припреме, начин складиштења, период коришћења и коначно заступљеност у целокупној исхрани.

Неоспорно је да преживари, базичне потребе за витамином А подмирују искључиво преко уноса β -каротина из крмних биљака, но и поред тога што се β -каротин из хране конвертује у ретинол уз помоћ цревних ензима, тај се ресорбује и директно, а при том процесу се депонује у јетри.

И поред тога да стандардни, необогаћени, оброк преживарима обезбеђује довољно прекурсора за подмиривање основних потреба за витамином А, у модерној производњи млека неизбежно је додавање витамина А, у форми ретинил ацетата.

Горенаведено, као и да се један значајан део β -каротина ресорбује непромењен и депонује у јетри, подстиче на размишљање за остале улоге β -каротина у организму. У том правцу се крећу и резултати већег броја истраживања, који указују на активност β -каротина у организму, која није повезана са оном где је прекурсор витамина А.

Бројна научна истраживања у области исхране млечних говеда истичу значајну антиоксидантну улогу β -каротина у одржавању здравља и продуктивности, преко побољшања функције имунолошког система, млечне жлезде, тиреоидне жлезде, стероидогенезе и у ширем смислу репродукције.

Сматра се да недостатак β -каротина доводи до појаве тихог (латентног) еструса, продужене овулације, ниског нивоа прогестерона, оваријалних цисти, повећања индекса осемењавања и ретенције плаценте код високо продуктивних млечних крава. Ови наводи поткрепљени су са побољшањем репродуктивних перформанси код

стада која су добивала повећане количине β -каротина у храни и парентерално.

Ипак, важно је да се нагласи да резултати истраживања утицаја β -каротина на плодност фармских животиња варирају у великом дијапазону од искључиво великог до незначајног. Са друге стране, репродуктивни поремећаји се сматрају једним од основних лимитирајућих фактора у ефикасној продукцији млечних крава, што неоспорно даје основу за даља истраживања.

Узимајући у обзир постојеће стање система за узгој и исхрану на фармама са интензивном производњом млека, могућностима што их даје преглед репродуктивних органа ултразвуком, као и доступност препарата за парентералну суплементацију β -каротина, покушали смо да истражимо дали постоји и колки је утицај β -каротина из хране на оваријалну функцију код високо продуктивних млечних крава, са посебним освртом на оваријалну активност.

Како би испунили основни циљ, пратили смо раст предовулаторних фоликула, величина фоликула пре саме овулације, време овулације, као и квалитет формираних жутих тела код крава у различитим квалитативним периодима исхране са аспекта β -каротина, као и могуће позитивно деловање додатог β -каротина, у форми интрамускуларне инекције 1% раствора β -каротина, у периовулаторном периоду.

2. Преглед литературе

2.1. Витамин А, каротиноиди и β каротин

2.1.1. Увод

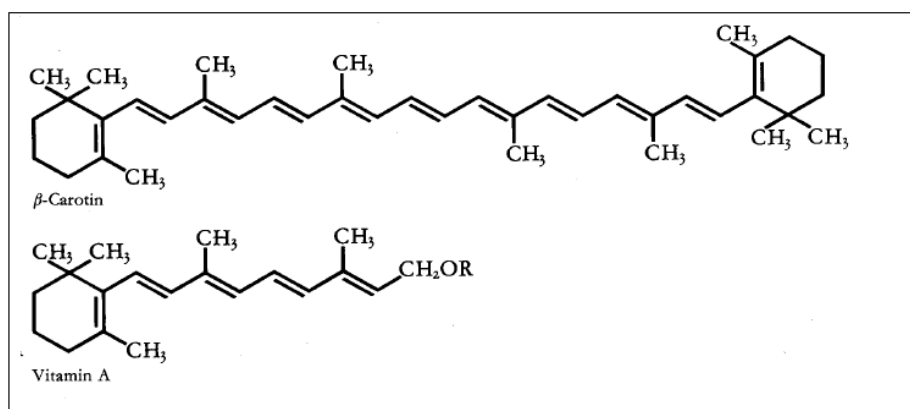
Витамин А је липосолубилан витамин, са изопренском структуром, у организму је најчешће заступљен као ретинол (витамин А₁), но може да се јави и у форми естера, етера или алкохола, кои се једним именом зову ретиноиди (Edem, 2009).

У природи, витамин А се налази само у животињским организмима, док су у биљкама присутна једињења позната као прекурсори витамина А или каротиноиди. Јетра (хепар) је богата са витамином А, као и неки анимални производи – млеко, јаја и рибље уље. Витамин А има нарочито значење у формирању мишићно-скелетног система, одржавању вида, стварању епителних ћелија, репродукцији, побољшању имунитета, а неопходан је и за правилан раст и развитак организма у целини. Његово деловање је последица везивања за специфичне једрене рецепторе преко којих има директан утицај на синтезу специфичних протеина који су неопходни, нарочито за развитак епителног ткива.

Каротиноиди су липосолубилне материје, широко распрострањене у природи. Од преко 600 природних каротиноида само четрдесет има провитаминску активност, а у сточној храни углавном налазимо 5 – 6 вида, док практично значење у физиолошком смислу имају алфа (α), бета (β) и гама (γ) каротин и β -криптоксантин. β -каротин зједно са α -каротином и ликопеном, убрајају се у подгрупу каротина, док β -криптоксантин, лутеин и зеаксантин припадају подгрупи ксантофила.

β -каротин је најзначајнији и најзаступљенији прекурсор витамина А. Са хемијског аспекта β -каротин припада групи угљоводоника. То су једињења која се састоје само од угљеникових и водоникових атома. Из њих произлазе сва друга органска једињења, у којима су одређени водоникови атоми замењени са другим функционалним групама. Једна подгрупа угљоводоника су алкени. Они се карактеришу са једном или

више C=C– двоструких веза и зато их зовемо незасићеним угљоводоницима. Између осталог алкени настају и дехидрирањем алкана и дехидратацијом алкохола (Karlson 1989). Једињења која садрже више C=C– двоструких веза, зовемо полиенима. У ову групу припадају и каротини, а из њих произлази много хидроксилираних једињења – каротиноида.



Слика 1. Структурне формуле β -каротина и витамина А

2.1.2. Заступљеност у природи

Каротиноиди су најчешће жуте до црвено-љубичасте полиенске боје, које синтетишу биљке, но и неке гљивице и бактерије, са активном фотосинтезом (Hanck и Kuenzle 1991). Горе је већ споменуто да практично значење има само неколико једињења из групе каротиноида – β -каротин (у травнатим биљкама, поврћу и воћу) и црвени пигмент у парадајзу (ликопен), из подгрупе каротина, као и жути пигмент у кукурузу и неким видовима гљивица (cryptoxanthin) и лутеин (жумањак, лисће листопадног дрвећа), из подгрупе ксантофила. Каротиноиди се налазе, у значајним концентрацијама, у хлоропластима и хромoplastима у зеленим биљкама, где су одговорни за фотосинтезу и за заштиту ћелије од слободних радикала (Kolb, 1998; Agbaје и сар. 2007).

2.1.2.1. Заступљеност у сточној храни

Количина β -каротина у храни која се користи у исхрани домаћих животиња је различита. Зелена сточна храна богата са лишћем, као на пример трава, травна силажа, силажа од репе и сена је релативно богата са β -каротином. Неретко се укупни садржај каротина креће и преко 300 мг/кг суве масе. Веће количине β -каротина налазе се у детелини, трави нарочито свежеј, но и силираној, листовима шећерне репе, шаргарепи, кукурузу, док су сиромашне β -каротином житне културе (Kalač и McDonald 1981). Житне културе садрже β -каротин у веома малим количинама, нарочито у стабљици где је садржај β -каротина скоро нула (Flachowsky, 1999).

Количина β -каротина, у великој мери, зависи од времена жетве, односно старости биљке, но и од начина припреме силаже и сенаже, дужини складиштења и коришћењу конзерванаса (Kirchgeßner 1987; Kalač и McDonald 1981). Тако, да у силажи од свеже траве налазимо већу количину у односу на силажу од суве траве (Grummer и Clark 1980; Kalač и Kyzlink 1980).

Табела 1. Садржај β -каротина у разним видовима сточне хране изражена у мг/кг свеже масе (извор Kolb 1998)

Храна	β -каротин мг/кг свеже масе	Храна	β -каротин мг/кг свеже масе
Трава (свежа)	180 – 250	Силажа сточна репа	5 – 10
Силажа трава (свежа)	10 – 40	Луцерка (брашно)	200 – 300
Силажа детелина	10 – 70	Сено (свежо)	10 – 30
Силажа кукуруз	4 – 20	Сено (старо)	1 – 5
Сенажа (стара)	7 – 15	Шаргарепа	60 – 80

Витамин А и каротиноиди су осетљиви на светло и уништавају се са оксидацијом, зато губитак β -каротина у старом сеноу износи 70-90% (Guilbert 1935; Bruhn и Oliver 1978).

Садржај β -каротина у силажи је у правилу виши у односу на сено, но после конзервирања и складиштења губитак може да износи и до 90% (Kirchgeßner, 1987). Током припреме силаже од свеже траве

губитак β -каротина је минималан, али ако се за силирање користи увенута трава или се трава скупља у неповољним временским условима (много влаге), губитак се повећава (Grummer и Clark 1980).

2.1.3. Искоришћавање β -каротина код домаћих животиња

Степен искоришћавања β -каротина варира и зависи од врсте хране, мањи је код силаже од кукуруза у односу на силажу од траве. Искоришћавање, исто тако, зависи од процента целулозе. Тако је степен искоришћавања мањи код сена (искористивост до 25%), у односу на силажу од траве (искористивост до 32%) (Nehring и Hoffmann 1967). Fernandez и сар. (1976), доказују да се степен искоришћавања додатно смањује код преживара, будући да се око 5-10% β -каротина из хране искоришћава од стране микроорганизама у преджелуцима. Храна богата целулозом због ниског садржаја β -каротина не игра никакву улогу у његовом искоришћавању (Kirchgessner 1987). Katsoulos и сар. (2005), утврдили су да на ресорпцију β -каротина, витамина А и витамина Е нема утицаја ни додавање физичких адсорбенса у бурагу.

Ресорпција каротиноида из хране одвија се после њиховог ослобађања из ћелијског матрикса и инкорпорирања у мешавину од жучних соли и липида (Yeum и Russell, 2002). Према томе, за апсорпцију каротиноида неопходно је присуство масти у храни. Довољно је само 3-5 г масти у храни како би осигурали задовољавајућу ресорпцију каротиноида (Jalal и сар., 1998; van Het Hof и сар., 2000). Каротиноидни додатци, инкорпорирани у липидни носач, немају потребу да се ослободе из биљног матрикса, што их прави погоднијим за ресорпцију од каротиноида из хране (van Het Hof и сар., 2000). После ресорпције у цревни епител, каротиноиди се инкорпорирају у хиломикроне (липопротеине богате триглицеридима) и као такви се ослобађају и улазе у циркулацију (Yeum и Russell, 2002). У јетри хиломикрони се ослобађају од триглицерида путем активности

ензима липопротеин липазе, док се каротиноиди поново инкорпорирају у липопротеине и поново се уносе у циркулацију. По потреби, у јетри, каротиноиди са провитаминском активности се деле и тако се ствара ретинал - форма витамина А (Woggon, 2002).

Конверзија каротиноида са провитаминском активности условљена је са индивидуалним потребама за витамином А (During и Harrison 2005). И поред тога што још увек нису познати механизми, сматра се да је деоба каротиноида са провитаминском активности инхибирана при високим концентрацијама витамина А у организму.

2.1.4. Потребе за β -каротином код млечних крава

Одређивање потреба за витаминима углавном је условљено степеном конверзије прекурсора у одговарајуће витамине. Степен деградације витамина у преджелуцима нарочито тешко се одређује и најчешће се игнорише, ипак Fernandez и сар. (1976), утврдили су да се 5-10% од унешеног β -каротина разграђује у бурагу. На жалост, често пута садржај витамина основног obroка не узима се у обзир при одређивању потреба. Други проблем, при извођењу препорука за количину β -каротина представља недостатак истраживања деловања β -каротина код млечних крава при различитим дозама β -каротина у храни. Lotthammer и Ahlsvede (1977) сматрају да организам високо продуктивних млечних крава има резерве β -каротина за 3-4 дана, што указује на константну потребу сталног допуњавања резерви. Већина аутора потребу за β -каротином одређује према количини млека и репродуктивној фази у којој се налазе млечне краве (висок gravidитет, односно фаза лактације), што у просеку по крави износи 200-500 мг β -каротина на дан.

Табела 2. Потребе за β -каротином код млечних крава

Аутор (година)	Потребе за β -каротином	Коментар
Ronning (1959)	0,18 мг/кг тм/дан	
Rosenberger (1978)	0,2 мг/кг тм/дан	100 мг/дан при 500 кг тм
Lotthammer (1979)	100 мг/дан	плус 20 мг/кг млека
Günther (1980)	300-480 мг/дан 100 мг/дан 10 мг/кг млека	потребе по крави у лактацији за потребе одржавања по крави додатне потребе по литру млека
Grummer и Clark (1980)	400-500 мг/дан	потребе по крави у лактацији
Stiewe (1984)	200-400 мг/дан	потребе по крави у лактацији
Marschang (1985)	600 мг/дан 200 мг/дан 20 мг/кг млека	потребе по крави у лактацији за потребе одржавања по крави додатне потребе по литру млека
Lotthammer (1985b)	100-200 мг/дан 300-400 мг/дан	потребе високо гравидних крава потребе по крави у лактацији
Herdt и Stowe (1991)	300 мг/дан	потребе по крави у лактацији
Schweigert (1995)	200-400 мг/дан	потребе за побољшање оваријалне функције
Flachowsky (1999)	> 15 мг/кг тм	

У пракси, уобичајене дозе се повећавају изнад препоручених вредности (дневне потребе плус сигурносни додатак). Тако, Flachowsky (1999) препоручује концентрацију β -каротина у храни од > 15 мг/кг суве материје у исхрани приплодних говеда и млечних крава. У складу са тим наводима, крава у лактацији, која уноси 20 кг суве материје са садржајем β -каротина од 15 мг/кг, уствари уноси 300 мг β -каротина дневно. Lotthammer (1979) наводи да за сваки литар произведеног млека потребно је додатних 20 мг β -каротина, тако да се укупна дневна потреба по крави која производи 40 л млека, повећава до 1100 мг/дан.

2.1.5. Потребе за витамином А

Преживне животиње, као чисти хербивори, не уносе витамин А преко хране. У оброцима преживних животиња, витамин А, се уноси или преко додавања у храни или у форми парентералних витаминско-минералних додатака. При формирању оброка, мора да се има у виду да се део витамина А, унесеног преко хране, деградира у преджелуцима под дејством руминалне микофлоре. У експериментима са биковима у тову, просечна редукција унесеног витамина А износила је око 50%. Сматра се да степен деградације витамина А зависи од количине скроба и сирових протеина у оброку. Надаље, уврђено је да колико је већа деградација витамина А толико је већи и број микроорганизама у садржају бурага (Warner и сар. 1970). Сматра се да конверзија β -каротина у витамин А код преживара износи 1 мг β -каротина – 400 ИЈ витамина А (NRC 1989, NRC 2001, Ullrey, 1972). У следећој табели, дате су вредности за потребама од витамина А, које су дали различити аутори.

Табела 3. Потребе за витамином А код млечних крава

Аутор (година)	Потребе	Коментар
Rosenberger (1978)	20-40 ИЈ/кг тм/дан 200-250 ИЈ /кг тм/дан 250-300 ИЈ /кг тм/дан	за потребе одржавања негравидне краве високо гравидне краве
NRC* (1989)	75000 ИЈ / дан	гравидне краве
Kolb (1998)	75000-100000 ИЈ / дан 100000-150000 ИЈ / дан	засушене краве краве у лактацији
NRC* (2001)	75000 ИЈ / дан 100000 ИЈ / дан 75000 ИЈ / дан 83000 ИЈ / дан	нетом отељене краве (680 кг тм) високо гравидне краве у транзицији високо гравидне јунице у транзицији засушене краве

* NRC – National Research Council

2.1.6. Ресорпција β -каротина после оралног уноса

2.1.6.1. Разлике код појединих видова животиња

Ресорпција β -каротина у танким цревима, у великој мери, се разликује код појединих видова животиња. Код свиња, оваца, коза, пацова и месоједа, β -каротин директно се ресорбује у малим количинама или се трансформише у витамин А у зидовима танких црева. Ови видови животиња имају упадљиво белу телесну маст.

Код говеда и коња, β -каротин се ресорбује у цревима, а акумулира се у крви и ткивима (Schweigert, 1988a). Зато телесна маст код ових животиња је жућкаста.

2.1.6.2. Ресорпција β -каротина код говеда

Сматра се да је за ресорпцију каротиноида у танким цревима потребно ослобађање каротиноида који су везани са протеинима. Осим тога, каротиноиди, у танким цревима, морају да буду уграђени у мицеле. Мицеле се састоје од жучних киселина, фосфолипида, моноацилглицерида и масних киселина. Оне омогућују ресорпцију масти и осталих састојака, растворених у мастима. Највероватније се мицеле складште на површини ептелних ћелија, а њихови саставни делови улазе у ћелије путем дифузије. Вредновање каротиноида зависи од количине формираних мицела, што значи, да зависе и од садржаја масти у храни. У испитивањима Колб-а (1998), ресорпција је подстакнута релативно високим садржајем липида у трави за пашу. Weiss и сар. (1994), су добили повећање концентрације β -каротина у крви преко повећања цревне ресорпције уз помоћ додавања масти у храни. Слично истраживање доказало је да превелико додавање калијума негативно утиче на ресорпцију β -каротина (Lotthammer, 1985 a).

Резимирајући горенаведено може да се каже, да ресорпција каротиноида код говеда још увек не може да се објасни у целости. Исто

тако, са сигурношћу може да се потврди да и β -каротин, са своје стране, има утицаја на ресорпцију других састојака из хране, као и да побољшава искоришћавање масних киселина са дугим ланцима и целулозе, при чему се повећава раст микроорганизама у бурагу (Hino и сар.1993).

2.1.7. Транспорт у телу после оралног уноса

2.1.7.1. Транспорт у крви

β -каротин је липофилна супстанца. Он се мора везати за растворљиве посреднике како би могао да се транспортује у водену околинду телесних течности. Ову улогу преузимају липопротеини, кои се стварају у јетри. То су липидо-протеински комплекси који се састоје од липидне компоненте и апопротеина. Ови липопротеини према густини могу да се поделе у четири класе. Најмању густину поседују хиломикрони, затим липопротеини са веома малом густином (VLDL), липопротеини са малом густином (LDL), а највећу густину имају липопротеини са великом густином (HDL) (Eisel, 1987). Присуство хиломикрона код одраслих преживара је веома контроверзно за разлику од телади. Због специфичности физиологије варења код преживара, у црева долази само мала количина липида за разградњу. Зато, у поређењу са другим видовима животиња и људима, преживари имају веома мало хиломикрона за транспорт липида, будући да се исти брзо разграђују у крви (Hartmann и сар. 1966, Prince и Frisoli 1993).

Због горенаведених разлога, њихово доказивање код говеда је веома отежано, тако да се сви липопротеини са густином испод 1,006 г/мл сматрају VLDL-фракцијом (Palmquist, 1976). У испитивањима Patton-а и сар. (1980), Ashes и сар. (1982), Kurz и сар. (1984) и Schweigert (1988а), утврђено је да се 80% β -каротина веже на HDL-липопротеинску фракцију, 11-15 % од β -каротина се веже на LDL-фракцију, а мање од 1% на VLDL-фракцију. Расподела каротина на

различите липопротеинске фракције не зависи од расе, пола, излучивања у млеко и његове концентрације у крви.

Ashes и сар. (1984), у испитивањима су утврдили, да крв крава садржи HDL са различитом величином честица. Веће HDL честице садрже више β -каротина по јединици тежине, у односу на мање HDL честице. Тако да је исхрана са засићеним мастима придонела за подизање концентрације HDL, који су опет, због способности да носе више β -каротина по јединици тежине, довели до повећања укупног садржаја β -каротина у крви. Још увек је нејасно како се одвија везивање β -каротина на липопротеине. Ashes и сар. (1984) претпостављају, да се β -каротин неспецифично депонује у липидном једру липопротеина.

2.1.7.2. Улазак у ћелије

β -каротин, инкорпориран у липопротеинима мале и велике густине, се везује на рецепторе на ћелијској мембрани, улази у ћелије и депонује се у једреној мембрани и митохондријама. Овде, β -каротин има улогу чистача радикала (Kolb и Seehawer, 1997). Са друге стране, међућелијски транспорт β -каротина још увек остаје неразјашњен. Истраживања су показала да се транспорт највероватније не одвија преко цитосолних транспортних протеина, ипак, потребна су додатна истраживања да би се утврдило дали се ради за транспорт преко везикула или за транспорт преко других протеина на мембрани (Gugger и Erdman, 1996).

2.1.7.3. β -каротин у вимену и фоликулима

Снабдевање периферних ткива β -каротином није уједначено. То пре свега зависи од способности β -каротина да искористи поједине ткивне липопротеинске фракције. Виме за време формирања колострума користи β -каротин везан за LDL-фракцију, а фоликулима на

располагању стоји само β -каротин везан за HDL-фракцију (Schweigert, 1986).

Фоликуларна течност се састоји, од једињења са ниском молекуларном тежином, који потичу из крви и од продуката метаболизма гранулозних ћелија (стероиди). Фоликуларна течност се сепарише путем високо селективне крвно-фоликуларне баријере (Edwards. 1974). Ова баријера функционише као филтер за молекуле са молекуларном тежином већом од 850,000 Далтона, овде припадају и VLDL и LDL (Shalgi и сар. 1973). β -каротин из крви улази у фоликуларну течност уз помоћ HDL фракције, која због много ниске молекуларне тежине може да прође низ крвно фоликуларну мембрану (Chew и сар. 1984).

2.1.8. Дистрибуција β -каротина у ткивима и млеку

2.1.8.1. Плазма и масно ткиво

Friesecke (1978), је у својим истраживањима утврдио да се главни депо β -каротина налази у плазми, на другом месту је депо у јетри док је на трећем месту масно ткиво. Акумулација у масном ткиву нарочито је видљива код говеда и коња (жута боја масног ткива). Интересантно је да се највиша концентрација β -каротина у организму налази у жутом телу, по чему је и добило име. Концентрација β -каротина у жутиим телима, јетри и масном ткиву код крава са смањеном количином β -каротина у храни, била је значајно нижа у односу на оне које су добивале храну са адекватном количином β -каротина (Ahlsweide и Lotthammer 1978).

2.1.8.2. Јетра

У упоредној студији за ниво витамина А и β -каротина у јетри, биле су утврђене седам пута веће концентрације витамина А у односу на β -

каротин. Поред тога су утврђене и значајне варијације у концентрацији различитих биопсата добијених из исте јетре (Коорман и сар. 1971).

Ови подаци показују да се β -каротин много мање депонује у јетри говеда за разлику од витамина А, но и да је дистрибуција витамина А и β -каротина у ткиво јетре неравномерна. Овакви закључци нарочито су важни при евентуалним интерпретацијама резултата хепаталних биопсата.

Свакако, важно је да се спомене и да концентрације β -каротина и витамина А зависе од дневног уноса преко хране.

2.1.8.3. Млеко

У својим истраживањима Zucker и сар. (1980) закључили су да се ниво β -каротина у млеку повећава после додавања β -каротина у храну, као и да је ниво у млеку био приближно једнак са нивоом β -каротина у крви. Исти су аутори утврдили да две до три недеље пре телења почиње да се формира колострум обогаћен β -каротином. Паралелно са овом променом, дошло је до пада концентрације у крвном серуму. Аналогно, колострум је садржавао 10 пута већу концентрацију β -каротина и 5 пута већу концентрацију витамина А, при чему седмог дана после телења вредности су се вратиле у нормалне границе.

Поред основне функције као извор имуноглобулина, колострум због искључиво малог трансплацентарног транспорта служи и као брзи пут за повећавање ниског нивоа β -каротина у крви новорођене телди, (Kolb и Seehawer 1998).

Студије за однос β -каротина у млеку и крви код млечних крава, су показале да садржај β -каротина у млеку зависи од периода лактације и броја лактација. Код старијих крава и код оних са већом количином млечне масти утврђене су веће концентрације β -каротина Leidl и сар. (1987). Oldham и сар. (1991) дошли су до сличних закључака. Уз то, концентрације β -каротина биле су смањене у фази максималне лактације.

Код крава са субклиничком кетозом, биле су утврђене повећане количине β -каротина у млеку, као последица повећаног процента млечне масти. Генерално, смањена млечност, као последица различитих обољења, исто тако, узрокује повећање β -каротина у млеку (Larson и сар. 1983).

2.1.9. Абсорпција после парентералне администрације

Eisele (1987) је утврдио да се β -каротин дистрибуирао у липопротеинску фракцију, на исти начин као и при оралној администрацији. Кратко реме после апликације дошло је до повећања липопротеинских фракција, богатих липидима (VLDL, LDL), са циљем да се омогући спајање са липофилним β -каротинима. Исти је аутор утврдио да је 4 сата после венске администрације 100 мг β -каротина дошло до потпуног везивања за липопротеинску фракцију. Оваква апликација, у току десет дана, довела је до двоструког повећања концентрације у серуму. Интрамускуларна администрација 500 мг β -каротина, 26 сати после апликације узроковала је десетероструко повећање концентрације у серуму (од 910 на 10070 $\mu\text{g/l}$). Ово повећање је трајало следећих десетак дана. Три недеље после администрације још увек је концентрација била виша од 3000 $\mu\text{g/l}$.

Парентерална администрација β -каротина, исто тако, довела је и до повећања количине β -каротина у млеку.

Комплетно везивање за липопротеине и повећана концентрација β -каротина у млеку омогућавају да се изведе закључак да се парентерално дат β -каротин код говеда искоришћава у целости (Eisele 1987). До сличних закључака, за искоришћавање интрамускуларно датог β -каротина код оваца дошли су и (Özpinar и сар. 1995).

2.2. β -каротин у крви

2.2.1. Дијагностички тестови

Концентрација β -каротина у крвном серуму може да се утврди семи квантитативно уз помоћ обојених плоча. Прозиран серум садржи мање од 1500 $\mu\text{g/l}$, бледо жути серум садржи око 2500 $\mu\text{g/l}$, док златно жути серум садржи око 3500 $\mu\text{g/l}$ β -каротина.

Ова метода нарочито је погодна за брзу контролу концентрације, но у поређењу са осталим методама даје нешто више вредности (Leidl и сар. 1987). Спектрофотометрија представља квантитативни метод, који се базира на анализи светлости која пролази низ испитиван серум/плазму. При томе, повећани интензитет обојења узрокује смањени интензитет абсорпције светлости. Овај метод даје добре резултате под претпоставком да серум није хемолизиран.

У новије време, садржај β -каротина у серуму/плазми одређује се са HPLC (high pressure liquid chromatography) методом (Cetinkaya и Ozcan 1991; Chawla и Kaur 2001; Gimeno и сар. 2001 и Schierle и сар. 2004).

2.2.2. Ниво β -каротина у крви код млечних крава

Генерално, се сматра да се садржај β -каротина у серуму, треба кретати око 3000 $\mu\text{g/l}$ (Herdt and Stowe 1991). У сваком случају вредности у серуму не требају да буду ниже од 1000 $\mu\text{g/l}$ (Lotthammer 1999a).

С обзиром да концентрација β -каротина у крви зависи пре свега од хране, концентрације у крви у периоду касне зиме и раног пролећа биле су значајно ниже, као последица деградације β -каротина у силажи и сену (Jukola и сар. 1996b).

Табела 4. Референтне вредности концентрација β -каротина у серуму млечних крава ($\mu\text{g/l}$)

Аутор (година)	β -каротин $\mu\text{g/l}$	Коментар
Friesecke (1978)	3000	минимална вредност – ниже вредности се сматрају за недостатак
Herdт и Stowe (1991)	изнад 3000	задовољавајуче вредности
Smith (1996)	1500-3970 испод 700	нормалне вредности недостатак
Kolb и Seehawer (1997)	3000-5000	говеда, храна богата каротином
Alvetra (произвођач Carofertin-a [®] 1998)	изнад 5000 испод 4000 2000 1000	нормалне вредности поремећај плодности граничне вредности апсолутан недостатак
Lotthammer (1999)	изнад 1000 изнад 2000	3 недеље пре партуса до 3 недеље после партуса остали период

Канадски истраживачи су утврдили позитивну корелацију између садржаја β -каротина у храни и концентрације у млеку и у серуму (Block and Farmer 1987). У овим експериментима, највећи извор β -каротина је био у силажи од траве (сенажа). Аутори наглашавају да је при одређивању потреба за β -каротином у храни неопходно да се анализира и стање односно концентрација витамина А на нивоу стада. Mashhadi и сар. (2003), објавили су да је концентрација β -каротина у серуму млечних крава значајно виша у јесен, истовремено нису постојале значајне сезонске разлике у концентрацијама које су нађене у јетри. Супротно њима, Fike и Saker (2006), објављују да су утврдили најниже концентрације β -каротина у серуму у јесен, док је код крмних биљака најмања концентрација била у рано пролеће.

Ипак, исти аутори сматрају да ако се следе основна правила исхране у високо продуктивним модерним системима, β -каротин не смее да представља лимитирајући фактор.

2.2.2.1. Индивидуалне варијације

Подаци из литературе указују да постоје значајне варијације у концентрацијама β -каротина у крви крава из истог стада, које су храњене истим квалитативним и квантитативним оброцима. У експериментима који су рађени у дужем временском периоду, биле су утврђене додатне периодичне варијације у концентрацијама β -каротина, при чему су се максималне и минималне вредности мењале у периодима од 6-8 недеља. Из ових студија, Ahlswede и Lotthammer (1978), су закључили да ресорпција и потреба за мобилизацијом зависе од сваке појединачне јединке. Lotthammer и Ahlswede (1977) и Lotthammer (1979) су истраживали и корелацију између концентрације холестерола и β -каротина у крви и функције тироидне жлезде.

И поред тога да је изведено релативно мало истраживања за интеракцију β -каротина и тироидне жлезде, закључили су да постоји веза између β -каротина и активности 5'-монодејоназе, а с тим се побољшава синтеза тријодтиронина. Аутори наглашавају да су потреба даља истраживања како би се разјаснила веза између тироидних хормона и β -каротина (Pethes и сар.1985b).

Важно је да се нагласи, да постоје велике генетске варијације између појединих животиња у експериментима са крвама. Ове варијације узрокују значајне индивидуалне разлике, тако да оваква ситуација тражи пажљиво одређивање броја животиња за постављање експеримента.

2.2.2.2. Ниво β -каротина у перипарталном периоду

Са сигурношћу може да се потврди да се ниво β -каротина и витамина А смањује у препарталном периоду (Burgstaller и сар. 1980). Ово је последица повећања концентрације β -каротина у колоструму. Потребно је неколико недеља за враћање концентрације на базични ниво. Истраживања секрета из вимена крава током периода засушења,

показују повећање концентрације β -каротина и витамина А неколко дана пре телења (Krieger и Schweigert 1993).

Утврђена је и корелација између вредности β -каротина у крви мајке и у крви новорођене телади (Fadl, 1966). Kolb (1998) доводи то у везу са много пута дискутованом, имуносупресијом у перипарталном периоду. Изгледа да постоји и једнако важна корелација између перипарталних концентрација у серуму и постојеће мобилизације липида. Перипарталната мобилизација масти доводи до смањења β -каротина у крви за отприлике 50%. Код здравих животиња овај пад би требао да износи око 20%. Исто тако, познато је да је потребан дужи период за поновно постизање базичних вредности. Из ових података може да се закључи да липомобилизацијата последично узрокује и поремећај транспорта β -каротина. Овакво стање, највероватније, представља један од битнијих разлога одгађања почетка нормалне цикличне активности крава у пуерпералном периоду (Haraszti и сар. 1984).

2.3. β - каротин као провитамин А

2.3.1. Метаболизам витамина А

Витамин А представља заједнички назив за већи број природних и синтетских једињења која имају сличну биолошку активност ретинолу (витамин А алкохол). У ову групу улази и дехидро ретинол (витамин А алдехид) и ретиноична киселина (има само деломичну активност). Естери ретинола (ретинил ацетат, палмитат и пропионат), исто тако, имају активност витамина А (Flachowsky, 1999). Витамин А у храни је само животињског порекла. Травоједи, као што су и говеда, комплетно зависе од прекурсора (највећим делом β -каротина). Конверзија β -каротина у витамин А одвија се првенствено у епителу танких црева, и то преко активности специфичног ензима β -каротин-15,15-диоксигеназе (Hanck and Kuenzle 1991). Овај ензим још се назива и бета–каротиназа.

Формиран ретинал веже се за хиломикроне и VLDL и у таквој форми улази у циркулацију. Поред цревне, бета-каротиназна активност постоји и у млечној жлезди (Brüggemann и Niesar 1955), јетри и бубрезима (Olson и Hayaishi 1965) и јајницима (Sklan, 1983). У јајницима, конверзија β -каротина у ретинол се одвија у жутом телу.

Као што је познато, сматра се да се просечно 1мг β -каротина конвертује у 400ИЈ витамина А (NRC 1989). Ипак ове вредности су више код већих количина β -каротина у храни, а ниже код мањих количина β -каротина Cetinkaya и Ozcan (1991).

Burgstaller и сар. (1980) су доказали да се и поред даљег повећавања количине β -каротина, ниво витамина А у плазми не подиже изнад 1200 ИЈ/л. Schlenzig и сар. (1988) и Weiss (1998) су утврдили да концентрација депонованог витамина А у јетри, физиолошки статус животиње, различити састојци у храни, као и стање у бурагу у великој мери утичу на пасажу β -каротина и његову конверзију у витамин А.

Комплексност овог процеса показује зашто је веома тешко да се формулише експерименталан дизајн за утврђивање потреба за β -каротином и витамином А.

2.3.2. Неке функције витамина А у организму

Витамин А је познат под именом „ретинол“, због његове неопходности при функционисању ретине. На пример, дефицит витамина А код људи доводи до „ноћног слепила“. За улазак у ћелије, витамин А се трансформише у 9-цис или транс-витамин А-киселину (ретиноична киселина). После везивања за рецепторе, улази у једро, где стимулише транскрипцију већег броја гена, укључујући и оне задужене за раст и развој организма (Kolb и Seehawer, 1997). Дефицит витамина А узрокује успорени раст, успоравање полног сазревања и спорији развој имунолошког система. Дефицит витамина А, исто тако, узрокује ендометритис, маститис и смањење плодности (Kolb, 1994).

Дуго времена се сматрало да су проблеми са плодношћу, повезани са смањеном ресорпцијом β -каротина у ствари секундарна појава при дефициту витамина А. Витамин А игра улогу у синтези стероидних хормона у јајнику, преко стварања ензимских комплекса, као и преко формирања протеолитичко ензимских комплекса у самом фоликулу, који су одговорни за лизирање фоликуларне мембране, за време овулације (Zerobin 1987).

2.4. β -каротин и плодност

2.4.1. Параметри плодности повезани са β -каротином

Старија немачка литература, из седамдесетих година прошлог века, сугерише да постоји утицај β -каротина на плодност, независно од витамина А. Доказано је да обогаћивање хране β -каротином доводи до смањивања проблема са неплодношћу, за разлику од претходних закључака да само са додавањем ретинил естера могу да се реше проблеми са плодношћу. Насупрот томе, доказано је да проблеми са плодношћу, повезани са дефицитом β -каротина, не могу да буду превазиђени додавањем витамина А.

У задњих неколико деценија извшена су бројна истраживања за утицај β -каротина на плодност високо продуктивних млечних крава.

Мишљења о утицају β -каротина на плодност крава су подељена. Један део аутора није утврдио позитиван утицај (Ducker и сар. 1984, Akordor и сар. 1986, Greenberg и сар. 1986, Tekpetey и сар. 1987a, Tekpetey и сар. 1987b, Wang и сар. 1987, Wang и сар. 1988 и Jukola и сар. 1996a.). Супротно од њих (Meyer и сар. 1975, Lotthammer и сар. 1976, Schams и сар. 1977, Lotthammer и Ahlsvede 1977, Lotthammer 1978, Lotthammer 1979, Jackson 1981, Heinz и Herzog 1982, Wang и сар. 1982, Rakes и сар. 1985, Ascarelli и сар. 1985, Inaba и сар. 1986b, Dembinski и Bronicki 1994, Dembinski и Bronicki 1996, Hasselmann и сар.

1999, Dovenski и сар. 1999, Dovenski и сар. 2007) утврдили су позитиван ефекат β -каротина на плодност.

Gossen и Hoedemaker (2005), потврђују да смањена концентрација β -каротина деломично има утицај на смањење репродуктивних перформанси код млечних крава, ипак, њихов општи закључак је да не постоји значајна корелација између β -каротина и плодности.

Постоје аутори који су објавили резултате који чак показују негативни ефекат на плодност (Folman и сар. 1987). Поједини истраживачи утврдили су побољшања у неким фиксним параметрима плодности као што су квалитет еструса, смањивање индекса осемењавања (Stolla и сар. 1987).

Надаље, утврђен је краћи интервал између ЛХ пика и овулације у експерименталној групи крава, којима је додата адекватна количина β -каротина, док су дужина циклуса, продукција прогестерона и индекс осемењавања остали непромењени (Tekpetey и сар. 1987).

Група аутора утврдила је ефекат побољшања у периодима са повећаном амбијенталном температуром (топлотан стрес). Животиње, храњене у таквим условима храном обогаћеном са 400 мг β -каротина/животња/дан, показале су побољшање плодности у процентима (Arechiga и сар. 1998a). Исти аутори, у другој студији нису добили значајне разлике у проценту концепције, при интрамускуларној апликацији β -каротина у три термина – 6 дана пре осемењавања, 3 дана пре осемењавања у комбинацији са простагландином F2 и на сам дан осемењавања. Животиње у експерименту су, исто тако, биле подложене топлотном стресу (Arechiga и сар. 1998b).

Истраживања Fischer-а (1996) и Failing-а и сар. (1998), показала су смањивање појаве пуерпералних поремећаја и значајно скраћивање сервис периода при повећаној концентрацији β -каротина у крви, 40 дана после телења. Ипак, мора да се нагласи да су подаци били прикупљени са 15 различитих фарми.

Сматра се да су велике дискрепанције у резултатима пре свега последица разлика у старости крава, броју животиња укључених у експерименте, начина узгоја животиња, лактацији, трајању апликације β -каротина, начину администрације β -каротина, додавању витамина А и начину исхране контролних група животиња (храна са нормалном, са смањеном количином или храна без β -каротина) (Hurley и Doane 1989).

Ascarelli и сар., 1985 и Lotthammer, 1979, нису успели да утврде позитиве ефекте при суплементацији β -каротина. Позитивни резултати (бољи знаци еструса, виши степен концепције, мањи индекс осемењавања, мањи број оваријалних цисти), у њиховим истраживањима добијени су укључивањем контролних група крава које су добијале храну са минималним количинама или храну у којој је β -каротин у потпуности изостављен.

Истраживачке групе које нису утврдиле значајна побољшања, користиле су краве које су биле храњене значајно бољом храном у односу на ону која је коришћена у истраживањима у којима су утврђена значајна побољшања.

Lotthammer и сар. (1976), наглашавају да само у екстремним ситуацијама, дефицит β -каротина, као самосталног фактора, може да узрокује проблеме са плодношћу.

Ови закључци су подржани и од других истраживача (Block и Farmer, 1987, De Kruif и Mijten, 1992). Исто тако, мора да се нагласи да је неопходно првенствено да се расчисти улога и метаболизам витамина А, за постизавање оптималне плодности крава, а тек тада да се разгледава улога β -каротина (Hemken и Bremel 1982).

Коначно, de Ondarza и Engstrom (2009), анализирајући резултате више аутора, закључују да додавање β -каротина позитивно делује на продукцију, имунитет и репродукцију код високо продуктивних крава, само код крава које добивају адекватне количине витамина А.

Ferguson (1996), при појави поремећаја плодности у стаду препоручује првенствено анализирање енергетских потреба, затим

недостатка протеина и на крају анализу витамина и микроелемената. Kessler и сар. (1991), наглашавају да β -каротин, у ниједном случају, не смее да представља замену за добар менаџмент или квалитетну исхрану.

2.4.2. β -каротин и гравидитет

Ahlswede и Lotthammer (1978), су утврдили да дефицит β -каротина може да изазове одгађање секреторне фазе утеруса у циклусу, што надаље може да узрокује неуспешан транспорт и нидацију оплођене јајне ћелије.

Lotthammer (1979) је у експерименталној групи са 12 крава и контролној групи са 6 крава, утврдио смањење ембрионалног морталитета и броја абортуса код гравидних животиња. Ипак, Weigelt и сар. (1988) нису могли да потврде исте резултате. Аутори сматрају да су се проблеми јављали највероватније као последица недостатка енергије и стреса.

Сматра се да је утицај β -каротина на лутеалну динамику (повећана продукција прогестерона), разлог позитивног деловања на одржавање гравидитета (Aslan и сар. 1998). Експерименти на ембрионима су показали да β -каротин има велики значај у секрецији транспортних протеина (binding protein), чиме се индиректно подржава раст ембриона (Ashworth 1994). Yildiz и сар. (2005), су утврдили после анализа концентрација β -каротина у серуму крава након осемењавања, да краве које су остале гравидне имају значајно веће концентрације β -каротина у крви, од оних које нису конципирале.

LeBlanc и сар. (2004), уврђују значајан пад концентрације β -каротина у периоду пре телења, код крава које развијају маститис у првој фази лактације, као и позитивну корелацију са алфа токоферолом у истом периоду.

Насупрот томе, Gossen и сар. (2005), апликујући парентерално β-каротин (Carofertin®), у перипарталном периоду код млечних крава, нису утврдили значајне разлике у репродуктивним параметрима у односу на контролну групу, као и побољшавање цикличности јајника у пуерпералном периоду. Исто тако, аутори су израчунали и повећавање трошкова по концепцији у групи која је добила β-каротин.

2.4.3. β-каротин и ретенција плаценте

До сада није утврђена значајна повезаност β-каротина и повећане појаве ретенције плаценте (заостајања постељице). Једино су Inaba и сар. (1986а), утврдили разлику, са слабом сигнификантношћу, између концентрација β-каротина код крава са ретенцијом плаценте и оних са нормалним партусом. Супротно од тога, Акаг и Gazioglu, (2006), са великом сигурношћу потврђују да су слаби параметри плодности, нарочито заостајање постељице у високој корелацији са нивоом β-каротина.

2.4.4. β-каротин и јајници

2.4.4.1. Основна сазнања

Сматра се да β-каротин игра важну улогу у оваријалној функцији, која се не може заменити додавањем витамина А.

Већи број аутора сматра да β-каротин има позитиван ефекат на функцију јајника (Cooke и Combe in 1978, Ascarelli и сар. 1985, Graves-Noagland и сар. 1989). Тај позитиван ефекат се види у повећаној продукцији прогестерона, лутеалног ткива, реткој појави цисти и повећању функционалног жутог тела. Kawashima и сар. (2009), утврдили су значајну корелацију концентрација β-каротина пре телења и успостављања оваријалног циклуса после телења. Ипак, као и у

претходним експериментима, резултати варирају у великој мери и зависе од услова у којима су се експерименти одвијали.

2.4.4.2. Присуство β каротина у јајницима

Количина β -каротина, ретинола и ретинил естера у фоликулима и жутим телима код говеда је значајно већа у односу на свиње. Осим тога, утврђена је позитивна корелација између концентрације β -каротина у фоликулима код говеда и у крви (Chew et al. 1984). У једном од новијих истраживања, на узорцима органа из кланице, утврђена је позитивна корелација између концентрације β -каротина у плазми и фоликуларној течности насупрот жутим телима. Исто тако, садржај β -каротина позитивно утиче на тежину и дијаметар жутог тела. Насупрот томе, садржај β -каротина у фоликуларној течности је у негативној корелацији са дијаметром фоликула (Haliloğlu и сар. 2002). Schweigert, (2003), је доказао да са повећавањем функције жутог тела и продукције прогестерона при анализи садржаја β -каротина и ретинола у лутеалном ткиву, концентрација β -каротина, континуирано се повећава док се концентрација ретинола смањује.

2.4.4.3. Оваријалне цисте

Lotthammer и сар. (1976), утврдили су да код животиња храњених храном без β -каротина, свака овулација касни за око један дан, у поређењу са животињама храњеним храном са адекватним количинама β -каротина.

Ahlswede и Lotthammer (1978), су забележили најмање концентрације β -каротина у крви код крава са оваријалним цистама. Ипак, мора да се нагласи да је у експеримент било укључено само 20 грла, а од њих само три су имала оваријалне цисте.

Исти аутори закључили су да је то стање реверзибилно, што су и доказали враћањем јајника у нормалну функцију после храњења крава адекватним количинама β -каротина у периоду од неколико недеља.

У каснијим студијама са 97 животиња, није утврђена корелација између појаве цисти и додавања β -каротина, уз то, реакције на GnRH третман нису се побољшале после додавања β -каротина. Марсек и сар. (1985), закључили су да β -каротин, додат у храну, не узрокује значајно смањивање учесталости оваријалних цисти, будући да је ниво β -каротина у крви, и у експерименталној и у контролној групи био изнад 3000 $\mu\text{g/l}$.

Inaba и сар. (1986b) утврдили су да је садржај β -каротина у крви значајно мањи код животиња са оваријалним цистама, у односу на оне без цисти. У истим експериментима, обе групе су добиле исту количину β -каротина у храни.

При поређењу утицаја расе, утврђено је да постоји јака веза између концентрације β -каротина и појаве оваријалних цисти код крава монтафонске расе, за разлику од холштајн-фризијске расе. Ипак, мора да се нагласи да је вредност β -каротина у крви код крава монтафонске расе варирала од 2000 $\mu\text{g/l}$, код оних са цистама, до 3100 $\mu\text{g/l}$, код оних без цисти, док је код крава холштајн-фризијске расе вредност се кретала око 3000 $\mu\text{g/l}$ (Özpinar и сар. 1988).

2.4.4.4. из β -каротина у јајнику и продукција прогестерона

Ahlswede и Lotthammer (1978), у експериментима код животиња са дефицитом β -каротина, утврдили су значајно смањивање концентрација прогестерона у лутеалном ткиву, у односу на оне храњене адекватном количином β -каротина. У летњим месецима, утврђено је значајно повећање концентрације у лутеинском ткиву, до средине циклуса и брзи пад према крају циклуса.

Супротно од тога, у зимским месецима, повећање прогестерона је одложено са блажим падом према крају циклуса. Није утврђена значајна разлика у концентрацијама прогестерона у летњем и зимском периоду. Садржај β -каротина у жутом телу зависио је значајно више од хране у летњем у односу на зимски период. Graves-Hoagland и сар.

(1988), закључили су да спори пораст прогестерона, у зимском периоду, је последица дефицита β -каротина.

Chew и сар. (1984) утврдили су да маса жутог тела није имала утицаја на садржај β -каротина. Ови наводи потврђени су налазом где су само одређени делови жутог тела били промењени под утицајем додатог β -каротина.

2.4.5. Ниво β -каротина у крви и продукција прогестерона

Dembinski и сар. (1996), узроковали су повећање нивоа прогестерона код крава храњених повећаним количинама β -каротина у храни. Ови резултати се не могу упоредити са резултатима неких претходника, будући да је ниво β -каротина у крви био изнад 1500 $\mu\text{g/l}$ (Bonsembiante и сар. 1980, Ducker и сар. 1981, Folman и сар. 1983). Одговор жутог тела на третман са hCG-ом не разликује се значајно код крава третираних β -каротином, у односу на контролне животиње. Ниво прогестерона у плазми код животиња у експерименталној групи је значајно брже растао у односу на контролну групу, из чега може да се закључи да β -каротин вероватно има утицај на ендокрину активност (Bindas и сар. 1984b). Ови закључци потврђени су и од других аутора (Pethes и сар. 1985a).

Haliloğlu и сар. (2002), потврдили су да постоји позитивна корелација између концентрације β -каротина и прогестерона у плазми. Исту корелацијску тенденцију има и концентрација β -каротина у фолукуларној течности и у лутеинском ткиву. У истраживањима Shamsa и сар. (1977), стање подхрањености није имало значајан ефекат на продукцију прогестерона. Апсолутне вредности предовулаторног ЛХ пика, и у експерименталној и у контролној групи, нису се значајно разликовале. У тим истраживањима, утврђено је само одгађање овулације. Wang и сар. (1988), потврдили су да суплементација β -каротина нити је променила продукцију прогестерона

нити је повећала димензије жутог тела, исто као и ЛХ продукцију и ЛХ одговор на спољашњу GnRH администрацију.

2.4.6. β -каротин у ћелији

Inaba и сар. (1987), утврдили су повећавање продукције прогестерона при додавању β -каротина у *in vitro* култури гранулозих ћелија. Насупрот томе, додавање витамина А, у истим културама, довело је до опадања продукције прогестерона. При анализи садржаја β -каротина у масним капљицама у епителу вимена, Patton и сар. (1980) су утврдили да интрацелуларне мембране микросома, голџијевог апарата и митохондрија садрже више концентрације β -каротина у ћелијама које не садрже капљице млечне масти. Надаље су истраживали у ком је степену заступљен β -каротин у лутеалним ћелијама и колико снажно је везан у самој ћелији. Аутори су утврдили да се β -каротин веома слабо веже за једра и митохондрије, док се веома снажно веже за мембрану микросома, при чему су закључили да β -каротин највероватније представља део микросомалне мембране.

Касније су, Chew и O'Fallon (1984), утврдили да се β -каротин веже и за протеине са високом молекуларном тежином у цитосолу. Новије студије потврђују да се β -каротин веома јако веже за микросомалну мембрану ћелија које продукују прогестерон (Holt и сар. 1995). Rapoport и сар. (1998), допуњују ове наводе закључком да β -каротин повећава продукцију прогестерона у микросомалним фракцијама лутеинских ћелија. До истих закључака су дошли и други аутори (Arkan и Rodway, 2000a; Arkan и Rodway 2000b).

Истраживања Hidalgo-а и сар. (2005), указују на могућ негативни ефекат ретинола на развој *in vitro* произведених бластоциста после трансфера у реципиенте. До сличних закључака су дошли и Gómez и сар. (2006), који наглашавају да концентрација ретиноида, као и време експозиције ембриона морају да буду прецизно процењени како не би дошло до појаве тератогених ефеката у *in vitro* условима.

Са друге стране, истраживања Salesa и сар. (2007), доказала су позитиван утицај β -каротина у комбинацији са токоферолом на квалитет ембриона добивених после суперовулације.

2.4.7. Функције β -каротина у јајнику независне од витамина А

Инкубација лутеалних ћелија узетих од свиња, са додатком β -каротина у концентрацији од само 0.1 $\mu\text{mol/l}$ узроковала је значајно повећање продукције прогестерона у односу на инкубираних ћелија са еквивалентном количином витамина А (Talavera и Chew 1988). Ови резултати указују да β -каротин изазива независан ефекат у јајницима, који су независни од витамина А, преко још увек недовољно разјашњених механизма.

Сматра се да се један од механизма базира на антиоксидативној функцији β -каротина. То је способност за заштиту ћелија од слободних радикала и других реактивних кисеоникових једињења, који се стварају при већем броју ензимских процеса (оксидација водоника за синтезу АТФ у митохондријима). Антиоксиданти апсорбују слободне радикале пре него исти проузрокују оштећења ДНК. Wardi и сар. (2001), успели су да побољшају функцију јетре код пацова после хемијске индукције цирозе, путем коришћења антиоксидативних својства β -каротина, док су Matos и сар. (2006), успели да смање оштећење простате код пацова, индуковане оксидативним стресом, узрокованим високим нивоом гвожђа.

Thyagaraju и сар. (2008), доказали су да орална суплементација β -каротина значајно смањује оксидативно оштећење тестеса и јетре, који су се јавили као последица дијабетеса. Исти аутори наглашавају ефикасност β -каротина као комплементарног терапеутског агенса у менаџменту компликација које се јављају као последица оксидативног стреса, узрокованог дијабетесом.

За разлику од претходних аутора, Hiningер и сар. (2001) нису утврдили нити позитиван нити негативан ефекат, на биомаркере оксидативног стреса после додавања ликопена, лутеина или β -каротина.

Перипартални оксидативи стрес (повећана појава слободних радикала) може узроковати појаву едема на вимену, заостајање постељице, пуерпералну парезу, проблеме са плодношћу и маститисе (Miller и сар. 1993). Превенција ових појава се базира на третману са антиоксидансима (витамини А, Ц, Е, β -каротин, глутатион) у стандардним обрoцима. Ипак, још увек нису познате тачне превентивне количине појединих компонената.

β -каротин се везује за липопротеине и као такав се преноси до ћелија терцијарних фоликула и жутих тела, његова улога остала је нејасна, све до закључака биохемијских истраживања која су направљена на изолованим гранулоза ћелијама. Утрђено је да слободни радикали, који се стварају при синтези прогестерона, могу да доведу до оштећења ензима и протеина који су укључени у сам процес синтезе. Ови ефекти су били значајно смањени после додавања β -каротина. Истраживачи су закључили да високе концентрације β -каротина у јајнику смањују степен оштећења (Rodgers и сар. 1995, Young и сар. 1995). β -каротин је деловао углавном као антиоксиданс и „чистач” слободних радикала при стабилизацији мембрана. Ови су закључци потврђени и од других истраживача (Rapoport и сар. 1998).

2.4.8. β -каротин као локалан извор витамина А у јајнику

Schams и сар. (1977), предпостављају да β -каротин има улогу локалног извора витамина А. Касније, Schweigert (1986) је утврдио да код неатретичних фоликула, садржај витамина А је значајно виши у односу на атретичне фоликуле. Аутор претпоставља да је витамин А присутан због веће конверзије у функционалним фоликулима. Касније, у неколико наврата, доказана је и активност каротиназе у терцијарним

фоликулима, у фази матурације, као и касније у жутом телу. Синтетисан витамин је деловао на повећање секреције 17- β естрадиола у терцијарним фоликулима и касније у жутом телу.

2.5. β -каротин и имунолошки систем

Урађен је већи број експеримената у циљу утврђивања утицаја β -каротина на функцију имунолошког система. Експерименти рађени *in vitro* показали су у зависности од физиолошког стања животиње (лактација, засушивање) утицај β -каротина на пролиферацију лимфоцита (Тјоелкер и сар. 1988). Исти аутори, касније су утврдили да је суплементација β -каротина у фази засушивања, имала позитиван ефекат на стабилизацију неутрофила и функцију лимфоцита (Тјоелкер и сар. 1990).

Касније је истраживан утицај β -каротина на функцију фагоцита у перинаталном периоду. Daniel и сар. (1991a) су утврдили да β -каротин повећава способност фагоцита за уништавање *Staphylococcus aureus*-а у млеку, али нису доказали и значајан ефекат на саму фагоцитозу. До сличних резултата, у правцу побољшања фагоцитарне функције и повећавања броја лимфоцита у перинаталном периоду дошли су и Michal и сар. (1994). У додатним истраживањима, β -каротин је побољшао митогену пролиферацију, индуковану конкавалином, једну недељу пре партуса (Daniel и сар. 1991b). Циљ овог истраживања је био да се утврди заштитна улога у вимену, ипак, тачан механизам, још увек није утврђен.

Насупрот овим, у теренским истраживањима, (Oldham и сар. 1991) није утврђен позитиван ефекат β -каротина на здравље вимена у пресушном периоду и раној лактацији. Kostoglou и сар. (2000), исто тако, нису утврдили позитиван утицај β -каротина на концентрацију IgG у серуму маторица и њихове прасади.

У хуманој медицини интерес за β -каротином се повећава после извештаја (Ziegler 1989), о позитивним ефектима код пацијената оболелих од канцера. Ипак, резултати Gossage и сар. (2000), указују да утицај β -каротина није значајан на имуну компетенцију Т лимфоцита код здравих женских пацијената.

У експериментима на лабораторијским животињама (пацови и зечеви), утврђена је побољшана бластогенеза одређених група лимфоцита, побољшање цитотоксичности лимфоцита, као и стимулација продукције различитих цитокина. Исто тако, утврђено је да β -каротин побољшава фагоцитозну и бактерицидну функцију неутрофила и перитонеалних макрофага. Са сигурношћу је доказано да ова функција β -каротина је независна од његове провитаминске функције. Код говеда, имуностимулаторне карактеристике β -каротина, омогућавају примену у циљу побољшавања општег здравља (Chew, 1993). Ramadan и сар. (2001), у *in vitro* условима, доказали су повећани утицај β -каротина, на активност полиморфонуклеарних ћелија изолованих из биволица у перипарталном периоду, у односу на витамин А.

2.6. Допунски фактори који утичу на плодност

говеда

Већи број фактора утиче на плодност говеда. И поред појединачних карактеристика, најчешће су ови фактори у значајној интеракцији. У случајевима кад је потребно да се утврди утицај недостатка β -каротина на плодност, неопходно је прво да се разгледају и да се искључе сви остали фактори који могу да имају негативан утицај на резултате.

2.6.1. Енергија

У истраживањима код високо продуктивних млечних крава, првенствено мора да се направи дистинкција између повећаног искоришћавања енергије и недостатка енергије. Повећано

искоришћавање енергија се јавља код високо продуктивних крава при крају лактације или пре засушивања. У том периоду енергетски баланс је у позитиви. Дефицит енергије пре партуса, у таквој ситуацији, доводи до појаве кетозе и оштећења јетре. Као последица, јављају се проблеми са инволуцијом материце и успостављањем полног циклуса. Ове грешке у исхрани, не могу да се компензују после телења са директним повећањем енергетског искоришћавања хране (Markusfeld et al. 1997).

Дебљање животиња, исто тако, треба да се избегне, због повећаног ризика појаве пуерпералне парезе и поремећаја у метаболизму и репродукцији (Morrow и сар. 1979, Swanson 1989). Још већи проблеми треба да се очекују у првој фази лактације, они се јављају као последица енергетског недостатка. У том периоду, високо продуктивне краве (> 40 литара млека/дан), не могу да испуне своје енергетске потребе само са енергијом доступном из хране. Животиње, у том периоду, улазе у негативан енергетски баланс, а недостатак компензују са својим енергетским залихама

Утицај негативног енергетског баланса на плодност одавно је познат. Ипак, веома је тешко да се изведу конкретни закључци, будући да су у том циљу извршена бројна истраживања, са различитим експерименталним дизајном и са различитим бројем животиња.

И поред тога што постоје конкретни позитивни резултати, високо продуктивна стада имају значајно већи број успешних оплодњи при другом осемењавању после телења, у односу на прво, под условом да су краве, при другом осемењавању успоставиле позитиван енергетски баланс (Butler и Smith 1989).

Надаље, краве са интензивним губитком тежине имају повећану тенденцију појаве анестрије (Perkins, 1985). Сматра се да хипогликемија, која се јавља као последица енергетског дефицита, узрокује поремећај у синтези гонадотропних хормона (Kolb и Elze 1995). Као резултат тога евидентне су појаве ациклије, тихог еструса, пролонгирања овулације и формирања цисти (Staples и сар. 1990).

2.6.2. Протеини

Најчешће не постоји недостатак протеина у оброцима високо продуктивних млечних грла. Оброци садрже адекватне количине силових протеина, са циљем постизања високог производства млека.

Надаље, оброк богат квалитетним протеинима је укусан, што повећава и целокупан унос хране. Овакви оброци не представљају проблем све док истовремено садрже и адекватну количину енергије. Енергија је потребна за синтезу микробијалних протеина у микроорганизмима румена (Martens и сар. 2000). При дефициту енергије, амонијак у румену, уместо да се преради, се ресорбује и метаболише у јетри до урее. Тако синтетисана уреа, излучује се преко бубрега и млека. При перзистенцији оваког стања, долази до оптерећења јетре и појаве тихог еструса, продужених еструсних циклуса и катаралних промена на гениталним органима (Lotthammer, 1985b). Као додатак претходном, Rensen и Ropstad (2002), су доказали да повећане концентрације урее и амонијака доводе до поремећаја утерине секреције и промене рН секрета материце. Горе изнесено се подудара са закључцима Ferguson-а и Chalupa (1989) да повећане протеинске вредности obroка (>18% кг/СМ) могу да представљају проблем за плодност животиња, само у случају истовременог недостатка енергије.

2.6.3. Минерали

И поред тога што се раније сматрало да недостатак фосфора доводи до поремећаја у плодности крава (Noller и сар. 1977), у прецизно дефинисаним условима није се могла утврдити значајна веза између недостатка фосфора и плодности. Због тога, недостатак фосфора може да се повеже само са општим недостатком енергије због смањеног уноса хране. У случају уноса високо квалитетног концентрованог obroка, мала је вероватноћа за недостатак фосфора.

Једино није познато дали постоји неки утицај неизбалансираног односа између калцијума и фосфора (Hurley и Doane 1989).

Насупрот томе, добро је познат утицај вишка калијума при недостатку натријума (Lotthammer 1985a). Као последица може да се јави катарална упала ендометријума, ациклија и слабо развијено жуто тело. Сматра се да калијум узрокује поремећај апсорпције β -каротина, што резултира смањивањем концентрације β -каротина у крви. У дањим истраживањима, доказано је да вишак калијума доводи до повећања појава пареза, заостајања постелејце и ендометритиса (Chandler, 1997, Horst и сар. 1997).

2.6.4. Микроелементи

У мочварним подручјима, где постоји дефицит селена, учестала је појава заостајања постелејце. Ендометритис који се јавља као последица заостајања постелејце смањује општу плодност стада (Karpef и сар. 1984). Voehnke и сар. (1993), утврдили су значајно слабије резултате при вештачком осемењавању животиња које су имале ниво селена у серуму ниже од 80 $\mu\text{g/l}$, у току засушног периода и до 60 дана после телења у односу на животиње које су у истом периоду имале више вредности. Исто тако, доказано је да додаток селена при његовом дефициту значајно побољшава плодност (Jukola и сар. 1996a). Lotthammer (1999) даје препоруку да за побољшавање плодности концентрација селена у серуму треба бити већа од 40 $\mu\text{g/l}$.

Постоје докази да дефицит мангана доводи до анафродизије, смањене контрактилности материце и гениталог катара (Anke 1971). Дефицит бакра доводи до ембрионалног морталитета и последичног смањења успеха осемењавања.

Улога бакра у плодности крава још увек није до краја разјашњена, нарочито при коришћењу бакра преко повећаног додатка осталих минерала као што су молибден, гвожђе, цинк или калцијум. Whitaker,

(1999) је доказао да комбинација високе концентрације молибдена и мале концентрације бакра доводи до поремећаја плодности.

Од горе изложеног, може да се закључи да микроелементи, са изузетком селена, немају неко веће значење за плодност, нарочито због тога што квалитетни оброци за високо продуктивне краве садрже задовољавајуће количине микроелемената.

2.6.5. Витамини

Са искључком β -каротина и витамина А, остали витамини не играју скоро никакву директну улогу у репродукцији крава. Раније се сматрало да витамин Е игра одређену улогу у репродукцији. Истраживањата Allisona и Lavena (2000) и LeBlanc-a и сар. (2002), су потврдила да осим одређене улоге у здрављу вимена и појави маститиса, витамин Е не исказује позитивне ефекте на плодност крава.

2.6.6. Микотоксини

Плесни (гљиве) у загађеној сточној храни, у одређеним условима ослобађају материје (микотоксине) који имају негативни утицај на више органских система животиња (Whitlow и Hagler 2005). Са сигурношћу се зна да поједини микотоксини (охратоксин, зеараленон и трихотецени) имају значајан негативан утицај на плодност крава (Höltershinken и сар. 1996). Нарочито зеараленон, у вишим концентрацијама доводи до нимфоманије, анестрије, појаве оваријалних цисти и абортуса (Weaver et al. 1986; Coppock и сар., 1990; Towers, и сар., 1995a, Towers, и сар ., 1995b, Sprosen i Towers, 1995, Smith и сар., 1996).

3. Циљеви дисертације

Највећи део аутора, који су истраживали утицај β -каротина, као провитамина витамина А или његов независан утицај на различите органе или органске системе, слаже се да постоји одређен позитиван самостални утицај или да се позитивни ефекти очитују у комбинацији са другим унутрашњим или спољашњим факторима.

Ипак, постоје и аутори који, у својим истраживањима нису утврдили никакав позитивни утицај или је тај био толико мали да се не може сматрати значајним. Као крајње супротни закључци могу се сматрати они, много малог дела научника, који тврде да β -каротин, у одређеним условима може да има и негативан утицај на поједине органске системе, са посебним акцентом на репродуктивни систем.

При формулисању циљева ове дисертације, водили смо се према неколико основних чињеница. Пре свега, високопродуктивне краве у нашој земљи још увек се гаје са застарелим експлоатационим системом, где су краве перманентно фиксиране у лежиштима још од првог експлоатацијског циклуса. Исхрана се базира на сену од луцерке и концентрату, са неуједначеним квалитетом и периодичним додавањем осталих храњивих састојака.

Као главни период истраживања одредили смо крај фебруара до почетка априла, тј. крај зимскиот периода и рано пролеће, када према свим показатељима из литературе, садржај β -каротина у сену је најмањи.

Главни циљ наших истраживања ће бити да се утврди какав је степен утицаја додатог β -каротина на јајнике у перивулаторном периоду, код млечних крава са дуготрајним функционалним стерилитетом, у условима недостатка β -каротина у исхрани и њиховог утицаја на здравствени и продуктивни статус.

За испуњавање основног циља били су зацртани и додатни циљеви са којима ћемо заокружити слику о могућем утицају β -каротина на плодност:

- утврђивање нивоа β -каротина у серуму и могуће индивидуалне варијације у периоду најниже заступљености у храни;
- утврђивање динамике β -каротина у организму после парентералне суплементације;
- утврђивање утицаја β -каротина, самостално или у комбинацији са ретинолом, на развој фоликула, овулацију и формирање жутих тела;
- утврђивање утицаја β -каротина, самостално или у комбинацији са ретинолом, на концепцију млечних крава.
- утврђивање утицаја β -каротина, на очување здравственог статуса стада са интензивном производњом млека.

4. Материјал и методе

Истраживање утицаја β -каротина на оваријалну активност, у периовулаторном периоду, код високопродуктивних млечних крава изведено је на 46 млечних крава холштајн-фризиске расе, које смо поделили у 3 експерименталне и једну контролну групу у зависности од суплементације β -каротином.

За потребе нашег истраживања, из једне штале, према случајном избору, одабране су негравидне краве. Све животиње биле су отељене пред више од 12 месеци и у периоду до почетка истраживања имале су више неуспешних осемењавања.

4.1. Услови гајења и исхрана

Животиње које су биле укључене у истраживање смештене су у један објект са везаним систем гајења, бетонским лежиштима и са подлогом од сламе, који не задовољава зоохигијенске стандарде у односу на квалитету и хигијену лежишта (сл. 2 и 3).



Слика 2. Услови држања крава које су биле укључене у истраживање

Исхрана крава, у периоду истраживања, састојала се од сена од луцерке у количини од око 10-12 кг, сламе око 5 кг и концентрата око 6-8 кг. Ова количина хране подељена у два obroка који су давани ујутро и увече после муже. Мора да се нагласи да се ради о просечним вредностима хране за све животиње у штали без обзира на производну фазу, као и да је концентрат дистрибуиран свакој животињи без веће контроле количине у односу на производњу млека.



Слика 3. Исхрана крава укључених у истраживање

Волуминозан део хране и сламе за подлогу складиштен је на отвореном простору без надстрешњице или прекривке. У периоду нашег истраживања, с обзиром на производни статус (лактација дужа од једне године и просечна дневна млечност <12 л.), животиње су биле храњене сеном од луцерке и сламом у количини од приближно 15 – 17 кг и приближно 6 - 8 кг концентрата.

Са циљем да се утврди квалитативан састав хране и хигијенска исправност исте, извршена је визуелна процена, хемијска анализа састава, као и микробиолошка анализа како кабастог, тако и концентрованог дела сточне хране. Резултати хемијске и микробиолошке анализе дати су у табелама 5. и 6.

Визуелна процена квалитета сена показала је значајну промену у боји (од зелене у жуту) балираног сена, као и већи удео стабљкастог дела у укупној маси (сл. 4).



Слика 4. Изглед балираног сена од луцерке

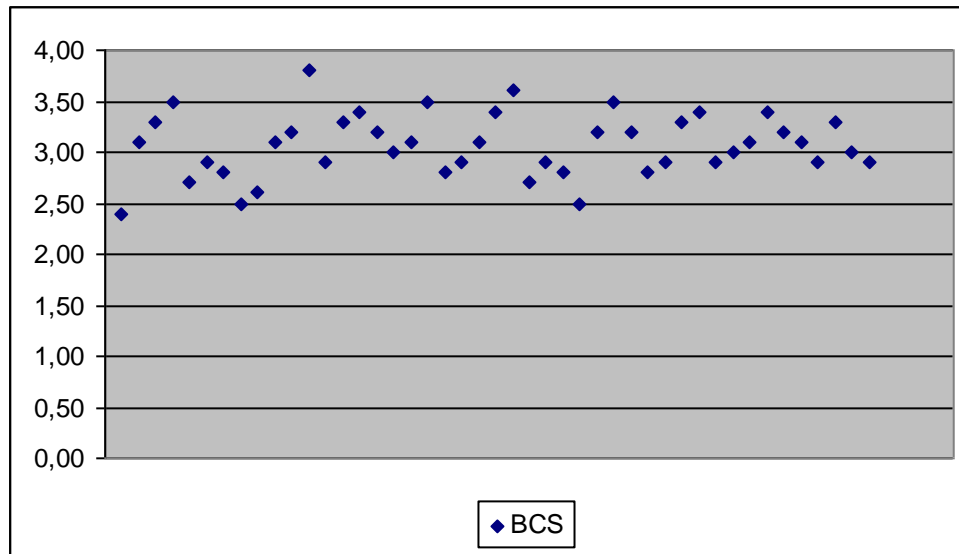
Табела 5. Хемијски састав сточне хране (%)

	Сено	Концентрат
Влага	7,08	9,64
Сува материја	92,92	90,36
Пепео	7,18	5,17
Протеини	14,87	13,73
Масти	3,47	5,88
Целулоза	31,15	8,73
Калциум	0,92	0,52
Фосфор	0,1	0,23

Табела 6. Микробиолошки састав сточне хране

	Сено	Концентрат
Укупан број бактерија / г	120 000	80 000
Salmonella Sp.	/	/
Clostridium Sp.	/	/
Укупан број гљива / г	28 000	12 400

Пре вршења прегледа и третмана животиња укључених у истраживање, са циљем да се утврди моментална кондиција, спроведен је тест за телесну кондицију (BSC). Просечна оцена на тесту износила је 3.0, са максималном вредношћу од 3.8 и минималном од 2.4. Дистрибуција оцена за телесну кондицију приказана је у графикону 1.



Графикон 1. Дистрибуција оцена за телесну кондицију (BCS) у популацији крава, укључених у истраживање

До почетка истраживања, све животиње које су биле укључене у експеримент, имале су у просеку 379 дана од последњег телења. У том су периоду, све животиње имале више од три неуспешна осемењавања.

Одмах после гинеколошког прегледа и узимања узорка крви, код крава из прве две групе, апликован је β -каротин - Carofertin[®], (Alvetra GmbH, Neumünster, Germany) у дози од 20 мл (200 мг β -каротина), према упутству произвођача. После апликације препарата, све животиње, код којих је при гинеколошком прегледу утврђено жуто тело, биле су третиране са $\text{P}_\text{g}\text{F}_2\alpha$, са циљем да се индукује еструс, као централан период у нашем истраживању. Уз то, краве из прве групе парентерално су добиле витаминско-минералан додатак Oligovit, (KELA Laboratoria N.V., Hoogstraten, Belgium), у дози од 25 мл, према упутству произвођача.

Друга контрола концентрације серумског β -каротина код испитиваних животиња извршена је 72 сата после апликације простагландина, у периоду индукованог полног жара (еструса).

4.2. Експериментални дизајн

Све краве у штали биле су подложене гинеколошком прегледу са циљем да се утврди репродуктивни статус. У истраживање су биле укључене негравидне краве са функционалним јајницима и нормалним (уредним) ултразвучним налазом утеруса.

Случајним избором, краве су биле расподељене у три експерименталне и једну контролну групу:

Група 1. – Краве третиране комбинацијом β -каротина и витамина А;

Група 2. – Краве третиране само β -каротином;

Група 3. – Краве третиране само витамином А;

Група 4. – Контролна група крава која није добивала никакав третман.

Код свих животиња у експерименту је извршена индукција еструса, са циљем да се следи могући утицај β -каротина на оваријалну динамику и оплодњу. Све животиње које су показале добре знакове еструса, 72 сата после индукције еструса, биле су осемењене. Пред свако осемењавање, извршили смо ултразвучан гинеколошки преглед са циљем да се провери овулација предовулаторних фоликула.

У току овог истраживања, процењиван је раст предовулаторних фоликула, време овулације, као и формирање и ехогена структура жутог тела. Паралелно са клиничким прегледима, били су узети узорци крви за одређивање концентрације β -каротина, естрадиола и прогестерона, у одговарајућим моментима перiovулаторног периода.

4.2.1. Гинеколошки преглед

Гинеколошки преглед састојао се од спољашњег прегледа полних органа и прегледа са ултразвучним апаратом унутрашњих полних органа. Посебну пажњу, при прегледу спољашњих полних органа, посветили смо на присуство вагиналне слузи, хиперимију вагиналне слузнице и променама *portio vaginalis* на цервиксу. Унутрашњи

гинеколошки преглед је искоришћен за утврђивање стања ендометриума и функцију јајника. Функција јајника је процењена преко одређивања броја и величине фоликула и присутности и квалитете жутих тела.

Одређивање квалитете фоликула изведено је преко мерења максималног дијаметра и анализе форме, док је квалитет жутих тела процењен на основу димензија и ехогене структуре (Довенски и сар. 1997, 1999).

Додатно је изведен тест телесне кондиције (Body Score Count) са циљем да се утврди моментална кондиција животиња (Roche и сар., 2009).

Све животиње, у току овог истраживања, биле су гинеколошки и ултразвучно прегледане 6 – 8 пута, у зависности од резултата осемењавања, према следечој динамици:

Преглед 1. дан 0. – Иницијалан гинеколошки ултразвучни преглед (тријажен преглед) крава које су више од једне године неуспешно осемењаване;

Преглед 2. дан 4. – Гинеколошки спољашњи и ултразвучан преглед и мерење раста доминантних фоликула;

Преглед 3. дан 5. – Гинеколошки спољашњи и ултразвучан преглед и контрола овулације (присуство фоликула или хеморагичног тела – corpus haemorrhagicum);

Преглед 4. дан 11. – Гинеколошки ултразвучан преглед и контрола раста жутог тела (димензије и ехогена структура жутог тела);

Преглед 5. дан 30. – Гинеколошки ултразвучан преглед и контрола гравидитета (присуство хипоехогене структуре и налаз фетуса у роговима утеруса);

Преглед 6. дан 90. – Гинеколошки ултразвучан преглед и потврда раста и развојка фетуса (налаз карактеристичних ехогених структура за плод стар 90 дана);

Краве које нису остале гравидне после првог осемењавања, биле су гинеколошки прегледане са одређивањем параметара, понављајући процедуру коју смо радили трећег дана.

4.2.2. Третман

После тријажног прегледа, све краве, код којих је утврђено функционално жуто тело, биле су третиране синтетским аналогом простагландина F_{2α} (PGF_{2α}), са циљем да се лизира жуто тело и да се синхронизује еструс.

За синхронизацију је коришћен препарат Iliren[®] Intervet International B.V. (Вохмеер, Holland). Препарат садржи 0.196 mg активне супстанце Tiaprost trometamol, која је еквивалентна на 0.150 mg Tiaprost-a и 2mg Chlorocresol-a као антимиоксибијалног агенса.

Произвођач наводи да препарат Iliren[®] може да се користи код крава за третман субеструса или анеструса, лутеалних цисти, пиометре, хроничног ендометритиса, избацавање мумифицираних фетуса, прекид гестације, индукцију партуса и синхронизацију еструса. Произвођач, за третман крава, препоручује дозу од 3.5 мл i/v или 5.0 мл i/m или s/c.

У исто време, краве из **1. групе** биле су третиране 20 мл Carofertin-a[®], Alvetra GmbH, Neumünster, Germany и 25 мл Oligovit-a, Kela Laboratoria N.V., Hoogstraten, Belgium.

Краве из **2. групе**, после синхронизације еструса, биле су третиране са 20 мл Carofertin-a[®], Alvetra GmbH, Neumünster, Germany.

Краве из **3. групе**, после синхронизације еструса, биле су третиране са 25 мл Oligovit-a, Kela Laboratoria N.V., Hoogstraten, Belgium.

Краве из **контролне групе**, после синхронизације еструса, нису добиле никакав третман. Код њих смо следедили само динамику оваријалних структура, уз помоћ ултразвучног скенера.

Препарат **Carofertin®**, представља 1% инекциони раствор β -каротина. Један милилитар раствора садржи 10 мг природног β -каротина. Производ је одобрен за коришћење код говеда и свиња. У информацијама произвођача нису наведени подаци за каренцу, а истовремено може да се користи код гравидних животиња и животиња у лактацији.

Према наводима произвођача, позитивне карактеристике препарата се виде у независном деловању β -каротина на плодност, његовом деловању као антиоксиданса, протективној улози у мембранама као и побољшању имунитета. Код говеда, произвођач потенцира позитиван утицај код терапије репродуктивних обољења, побољшавање знакова еструса, убрзавање инволуције утеруса, смањење ризика од заостајања плаценте, стабилизацију жутог тела, побољшање продукције прогестерона, побољшавање имплантације, преко стимулације утерусних жлезда, бољи имуни статус новорођенчади као и за третман и профилаксу ендометритиса. Препарат се посебно препоручује као додатак код недостатка β -каротина у зимским месецима, при исхрани сеном или силажом.

Произвођач, пре коришћења препарата, препоручује искључивање недостатка витамина А, будући да би се у том случају цели β -каротин трансформисао у витамин А, а са тим не би могла да се истакне његова независна улога. Исто тако, треба да се искључи оксидативан стрес и недостатак витамина Е и селена. Поред тога, неопходно је да се пре коришћења β -каротина одстрани и неки други негативни ефекти који могу да утичу на плодност – микотоксикозе или недостатак микроелемената (P, Mn, Zn, Mo, J).

Према спецификацији произвођача, појединачна доза за краве и јунице износи 20 – 25 мл у две одвојене апликације на различита места. Производ је намењен за дубоку интрамускуларну апликацију. При терапији неплодности, препоручују се две апликације, прва у периоду од 1-2 недеље после телења, а друга 6-8 недеља после телења.

За побољшање имунитета новорођенчади, препоручује се апликација једне дозе препарата 1 – 2 недеље пре предвиђеног партуса.

Oligovit инекциони раствор садржи: витамин А 50 000 И.Ј., витамин РР 5 мг, витамин D3 25000 И.Ј., витамин B12 0.01 мг, витамин B1 10 мг, витамин Е 4 мг, витамин B2 0.04 мг, холин хлорид 5 мг, витамин B6 1 мг, инозитол 2 мг, магнезиум 1 мг, бакар 0.1 мг, цинк 0.1 мг, кобалт 0.02 мг, манган 0.1 мг, пантотенол 2 мг и метионин 5 мг.

Препарат се користи за: профилаксу и терапију хиповитаминоза, нарушен метаболизам минералних материја, нормализацију размене материја, побољшање продукције и опште заштите организма. Произвођач овај производ препоручује и за побољшање резистентности организма, побољшање плодности код животиња као и за подршку у току гравидитета и лактације. За профилаксу и терапију код говеда се препоручују дозе од 0.5 – 1 мл/10 кг или највише 25 мл раствора, апликованог дубоко интрамускуларно.

4.2.3. Скупљање података и материјала за анализу

Ултразвучно скенирање репродуктивних органа крава је изведено уз помоћ скенера Aloka 500 Micrus (Japan) који је имао B-mode ректалну линеарну сонду јачине 7.5 MHz.

За потребе овог истраживања биле су мерене димензије оваријалних формација, уз помоћ електронског шестара (caliper – system) – уграђеног у софтверски програм. Због документовања и ретроспективне анализе, слике са екрана биле су отштампане уз помоћ термалног штампача (Video copy processing unit, Model P60B, Mitsubishi Electr. Co. Ltd. Japan), а затим су исте биле скениране и смештене у посебну фасциклу у електронској верзији.

Од сваке животиње, укључене у истраживање, узимана је крв, у три наврата и то на почетку истраживања односно пре апликације

предвиђеног третмана (0.дан), на дан вештачког осемењавања (4.дан) и једну недељу после осемењавања (11. дан).

Крв је узимана одмах после ултразвучних прегледа, од површински конгестиране v. jugularis, уз помоћ инекционих игли 18G, за једнократну употребу. Крв за анализу β -каротина узимана је у пластичне епрувете са чепом, без антикоагуланса (Sarstedt, Germany), док су узорци за анализу оваријалних хормона били узимани, у епрувете са антикоагулансом (EDTA). Све епрувете са узорцима за анализу β -каротина биле завијене са алуминиумском фолијом, у циљу да се искључи негативно деловање светлости на β -каротин у крви. Обележане епрувете, у најкраћем року после узимања примерака крви, биле су смештене у ручан фрижидер на температуру од 8-12° Ц.

У лабораторији, узорци крви су центрифугирани на 3000 обртаја/мин. (еквивалентно на 1900 G), у трајању од 15 минута при температури од 4° Ц. Сви узорци са одвојеним бистрим серумом (без хемолиза) ушли су у даљу процедуру, а узимање примерака је поновљено код оних животиња које су имале хемолизиран серум. Крвна плазма, исто тако, је одвоена центрифугирањем на 3000 обртаја/мин у трајању од 15 мин.

Узорци серума и плазме били су пребачени у пластичне мини епрувете са чепом и складиштени у фрижидеру за дубоко замрзавање на температури од -18 до -20° Ц, до коначне анализе.

4.2.4. Испитивање серумске концентрације β -каротина

Мерење концентрације β -каротина је изведено уз помоћ течне хроматографије са високим притиском (HPLC), директно из серума, после преципитације са 2–пропанолом, према методи Miller-а и сар. (1984). Примерак од 100 μ л сваког серума помешли смо са 200 μ л 2–пропанола, мешавину смо кратко протресли на вортексу, а после тога центрифугирали. Супернатант смо преносили у чисту кивету за даљу анализу.

Анализа свих примерака направљена је уз помоћ HPLC система LC-1 UV-Vis detector 3 (SPD-6AV, Shimadzu, Japan) и Purospher Star RP18 – encapped колоне (3 микрона (30x4 мм)) (Fa. Varian 2010, Germany). У процесу испитивања, као мобилну фазу, користили смо метанол. Инјектиран волумен пробе био је 20 μ л, са брзином протока од 1мл/мин., док је таласна дужина детекције износила 452 нм. Идентификација супстанције извршена је после поређења ретенционог времена пикова на хроматограмима испитиваних примерака серума са оним од стандардних раствора (500, 1000, 2500 μ г/л β -каротина).

Квантификација је извршена уз помоћ калибрационе криве која је изведена уз помоћ спољашњих стандарда. Intra-assay коефициент варијације износио је 5.00%. Концентрације β -каротина у серуму изражене су у μ г/л.

4.2.5. Испитивање плазмене концентрације оваријалних стероидних хормона

Квантитативно мерење концентрације прогестерона (P_4) и естрадиола (E_2) извршено је уз помоћ EIA теста – Progesterone и Estradiol serozyme (Serono Diagnostic SA – Switzerland). Испитивања су извршена у ендокринолошкој лабораторији гинеколошке клинике при Медицинском факултету у Скопљу.

У овом тесту се користе анти-естрадиолни и анти-прогестеронски антитета са високим афинитетом, који су на Fc завршетку, фабрички обележани флуоресцеином. Сепарација везане од слободне фракције на коњуигираним естрадиолом врши се уз помоћ антитета против флуоресцеина у магнетној тврдој фази.

Сензитивност ове методе износила је мање од 5 пг/мл за Естрадиол и 0.15 нг/мл (0.48 нмол/мл) за прогестерон.

Специфичност наведених тестова је исто тако висока: укрштене реакције код естрадиола регистроване су 17 β -естрадиол 3 β δ -глукуронидом (8%) и естроном (5%), а код остала 22 метаболита биле су

мање од 0.025%, док је код прогестеронског теста измерена укрштена реакција за 5α -прегнандиол (14.5%), за прегнанолон 3-глукуронид (8%) и за desoxycorticosteron (2.1%). Код преосталих 20 стероидних метаболита била је мања од 1.0%.

4.3. Статистичка обрада података

Сви добијени подаци у овом истраживању били су унесени и сређени у табелама. На почетку је извршена дескриптивна статистичка анализа, при чему је, за све групе параметара израчуната средња вредност (\bar{x}), стандардна девијација (SD) и стандардна грешка средње вредности (SEM). Анализа добијених података је извршена уз помоћ статистичког програма SAS 9, при чему је коришћен генерализиран Least Square Model (GLSM) (Kennedy, 1989). Сви су фактори били анализирани за статистичку значајност уз помоћ теста за најмању сигнификантну девијацију (LSD).

Одређивање степена корелације између испитиваних параметара, изведено је уз помоћ Pearson-ове корелационе анализе. Преко одређивања коефицијента корелације и варијабле r , одређена је статистички значајна корелација између параметара ($p < 0,05$ или $p < 0,01$).

5. Резултати истраживања

На почетку овог истраживања, са циљем да се формира полазна тачка за даље анализе, од свих крава укључених у експеримент, узети су узорци крви за утврђивање моменталне серумске концентрације β -каротина. Период у којем смо започели наша истраживања (фебруар – март) узет је у обзир са циљем да се истраже наводи више група истраживача у односу на трошење β -каротина у организму у периоду касне зиме и раног пролећа, тј. при максималној деградацији у конзервираној зеленој крмној маси. Просечна концентрација β -каротина у серуму, износила је $1718,25 \pm 10,39$ $\mu\text{g/l}$. Максимална измерена вредност β -каротина у целој популацији износила је $1941,7$ $\mu\text{g/l}$, док је минимална вредност износила $1544,5$ $\mu\text{g/l}$.

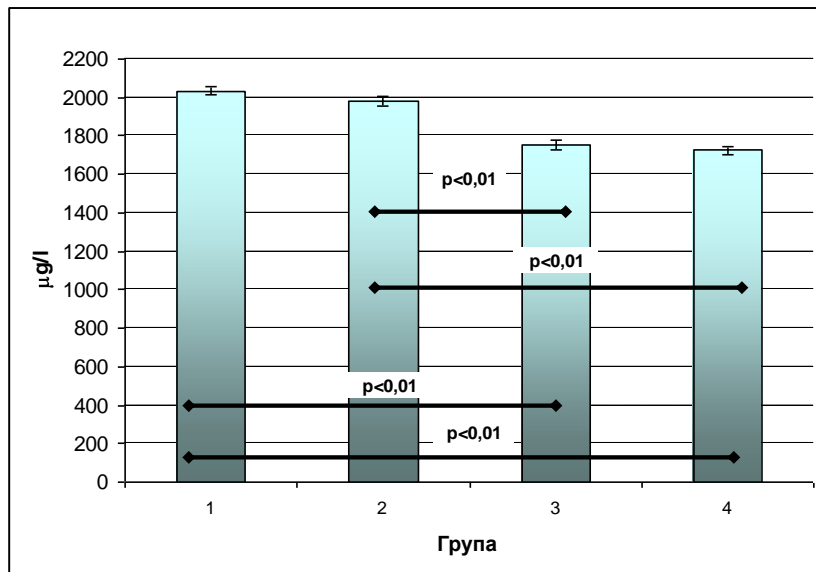
Просечна концентрација β -каротина у серуму код свих грла укључених у истраживање, у периовулаторном периоду (Д 4), износила је $1860,12 \pm 23,73$ $\mu\text{g/l}$. Нормално, просечне серумске вредности β -каротина у групама 1. и 2. биле су значајно повећане ($2056,62 \pm 28,31$ и $1981,83 \pm 21,89$), у односу на 3. експерименталну групу и контролну групу ($1770,15 \pm 33,72$ и $1714,77 \pm 16,67$).

Табела 7. Просечне вредности серумских концентрација β -каротина у истраживању на дан овулације код синхронизираних грла

	Група 1	Група 2	Група 3	Контрола
Просечни вредности ($\mu\text{g/l}$) \pm SEM	$2056,62 \pm 28,31^a$	$1981,83 \pm 21,89^a$	$1770,15 \pm 33,72^b$	$1714,77 \pm 16,67^b$

* а : б - статистичка значајност $p < 0.05$

Резултати F – теста показују статистички значајне разлике ($p < 0.05$), између просечних серумских вредности код животиња у експерименталним групама 1. и 2. и експерименталној групи 3. и контролној групи.



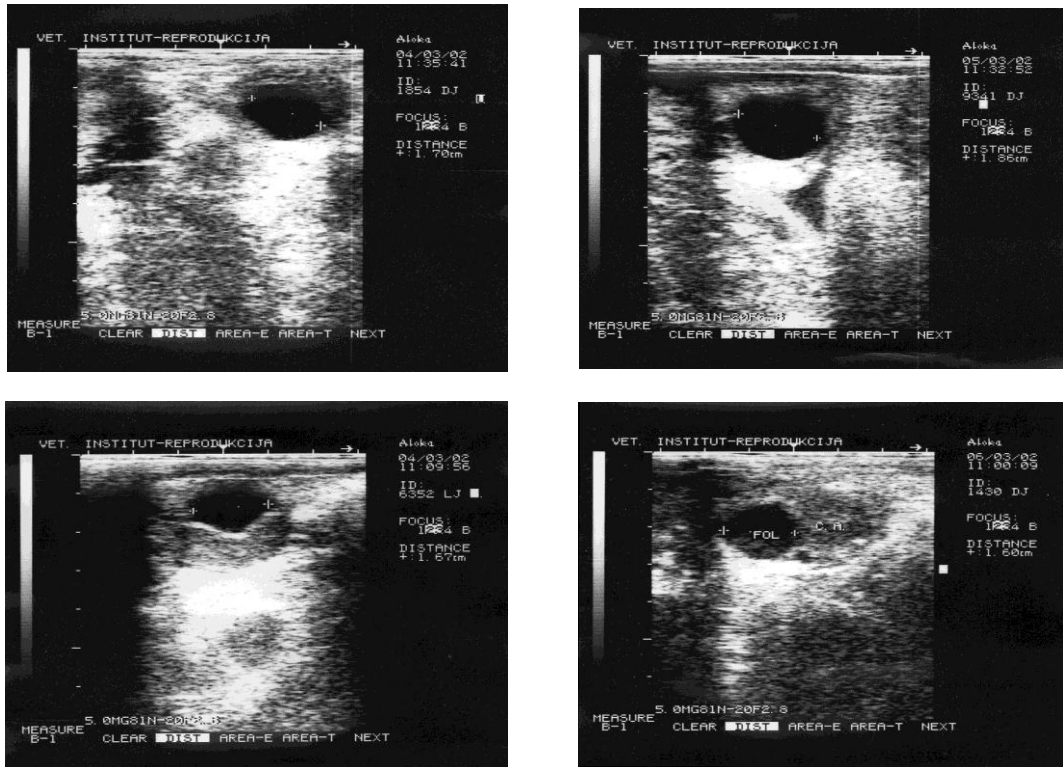
Графикон 2. Дистрибуција концентрација серумског β-каротина, између група у фази овулације (Д4)

У истом периоду, код свих животиња укључених у истраживање код којих је извршена синхронизација еструса, извршен је и гинеколошки преглед као и ултразвучни преглед репродуктивних органа. Са прегледом спољашњих полних органа вршена је процена квалитета знакова полног жара, док је уз помоћ ултразвучног скенера утврђен број, величина и ехогена структура предовулаторних фоликула. У исто време, са узорцима крви за одређивање β-каротина, узимани су и узорци крви за анализу концентрације естрадиола (Е2), са циљем да се потврде клинички наводи и да се утврди функционалност предовулаторних фоликула.

Клиничким прегледом полних органа, је утврђено присуство вагиналне слузи код 11 животиња (24.4%), хиперимија вагиналне слузнице код 28 животиња (62.2%) и отвореност, хиперимија и појава цервикалне слузи на вагиналном делу цервикса код 31 животиње (68.9%).

Просечан дијаметар предовулаторних фоликула код свих животиња које су показивале знакове еструса износио је $17,35 \pm 0,25$ мм. Димензије предовулаторних фоликула у групама 1.; 2.; 3. и контролној

групи показале су минимална одступања ($17,85 \pm 0,42$; $17,18 \pm 0,73$; $17,15 \pm 0,56$; $16,7 \pm 0,31$).



Слика 5. Сонограми јајника у периовулатором периоду – видљиви су фоликули са различитом димензијом

Резултати F – теста нису показали статистички значајне разлике ($p > 0.05$), између вредности у експерименталним групама 1., 2. и 3. и између експерименталних група и контролне групе.

Табела 8. Просечне вредности димензија предовулаторних фоликула на дан овулације код синхронизираних грла у истраживању

	Група 1	Група 2	Група 3	Контрола
Просечне вредности мм \pm SEM	$17,85 \pm 0,42^a$	$17,18 \pm 0,73^a$	$17,15 \pm 0,56^a$	$16,7 \pm 0,31^a$

* а - статистичка значајност $p > 0.05$

Вредности серумске концентрације естрадиола, код свих животиња у периовулаторном периоду кретале су се од 10,5 до 17,4

р/мл, док је просечна вредност износила $14,38 \pm 0,31$ р/мл. И поред тога да је у истраживању постојала разлика у просечним вредностима између група ($15,1 \pm 0,41$; $14,86 \pm 0,53$; $14,91 \pm 0,61$; $12,19 \pm 0,44$), анализа варијансе резултата утврђене серумске концентрације естрадиола, у периовулаторном периоду, није показала статистички значајне разлике ($p > 0.05$) између животиња у експерименталним групама 1., 2. и 3. и између експерименталних група и контролне групе.

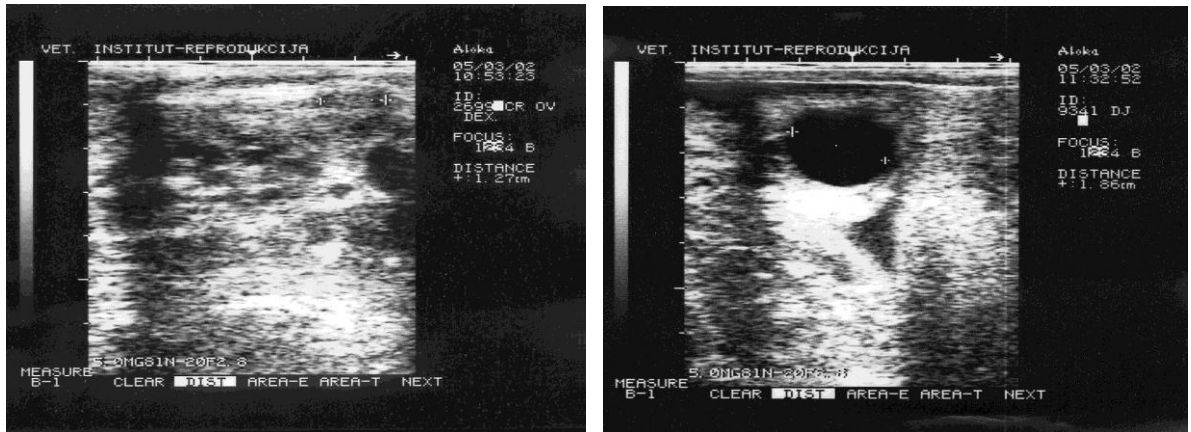
Табела 9. Просечне вредности естрадиола у плазми у периовулаторном периоду код синхронизираних грла у истраживању

	Група 1	Група 2	Група 3	Контрола
Просечне вредности р/мл \pm SEM	$15,1 \pm 0,41^a$	$14,86 \pm 0,53^a$	$14,91 \pm 0,61^a$	$12,19 \pm 0,44^a$

* а - статистичка значајност $p > 0.05$

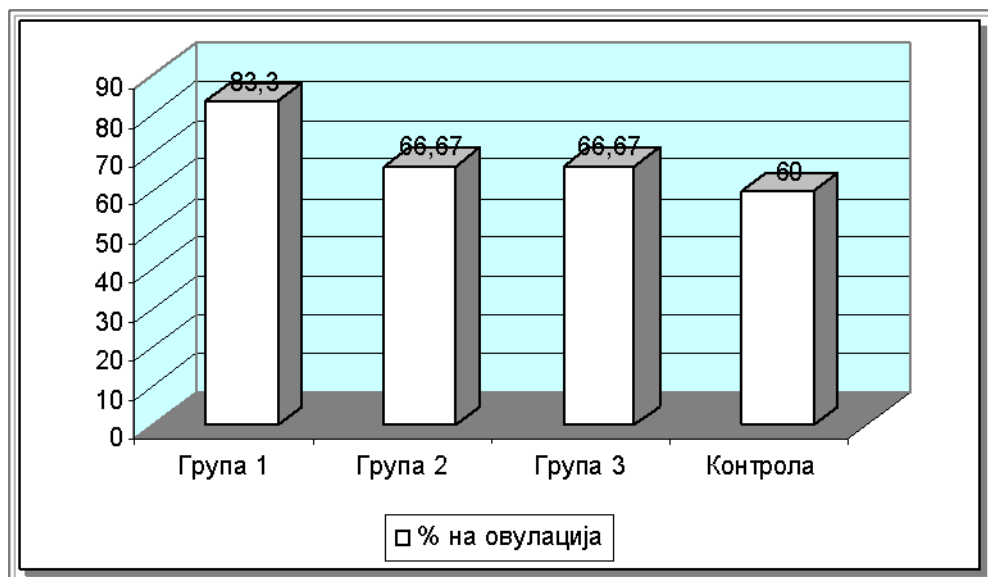
Поред тога, 96 сати после синхронизације еструса тј. следећег дана после очекиваног еструса, све су краве још једном прегледане ултазвучним скенером. Преглед је извршен са циљем да се утврди правовремена овулација. Дијагноза саме овулације добијена је дедуктивно, преко детекције *Corpus haemorrhagicum* (CH) или присуства фоликула, на истом јајнику на којем је и претходног дана детектован фоликул.

Са поновним прегледом, од свих синхронизираних животиња, код укупно 14 животња је утврђено присуство фоликула са просечним дијаметром од 17.27 мм, без налаза хеморагичног тела.



Слика 6. Сонограми јајника 96 сати после апликације простагландина – видљиви су предовулаторан фоликул (десно) и corpus haemorrhagicum (лево)

Код остале 31 животиње (68.9%), нису били утврђени предовулаторни фоликули већ само налаз corpus haemorrhagicum. Анализирајући степен овулације по групама, може да се забележи разлика између група и поред тога што није могла да се изведе статистичка анализа.



Графикон 3. Процент овулације код појединих група животиња у периоду између 72 и 96 сати

Све животиње, код којих су гинеколошким прегледом били утврђени карактеристични знаци еструса и дијагностикован предовулаторан фоликул, биле су осемењене. Следећег дана, 96. сата после апликације простагландина, осемењавање је поновљено код оних грла код којих је још увек био присутан фоликул.

Трећи контролни период, 11. дан после синхронизације еструса, тј. у периоду максималног раста жутог тела, извршени су ултразвучни прегледи јајника. Током прегледа, праћен је пораст жутих тела и визуелно одређивана ехогена структура лутеинског ткива (Довенски, 1997), а уз то су узети узорци крви, за одређивање концентрације серумског β -каротина и плазмених концентрација прогестерона.

Циљ треће контроле био је да се утврди перзистенција β -каротина у циркулацији и могуће деловање на функцие жутог тела. Просечна концентрација β -каротина у серуму код свих грла укључених у истраживање, у лутеалном периоду (Д 11), износила је $1752,71 \pm 25,57$ $\mu\text{g/l}$, док се опсег кретао од 1449,27 до 2051,8 $\mu\text{g/l}$.

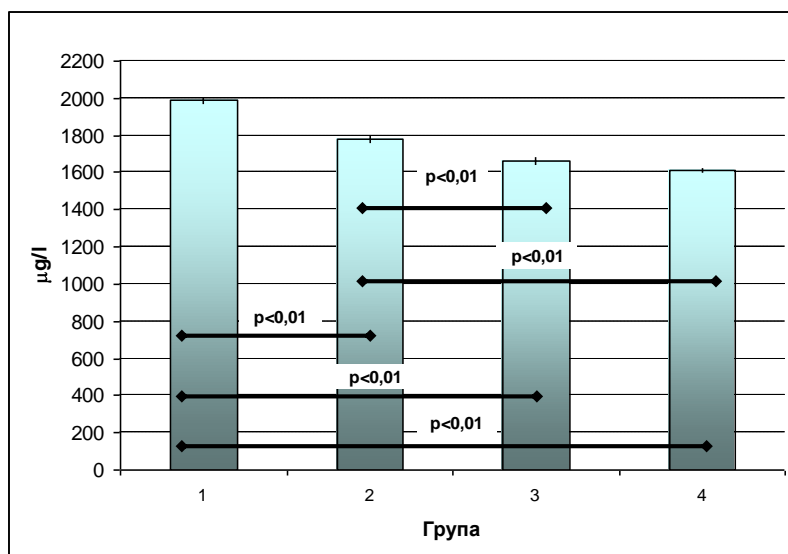
Просечне вредности серумског β -каротина по појединим групама биле су $1981,54 \pm 22,64$; $1780,90 \pm 19,44$; $1670,45 \pm 28,13$; $1600,26 \pm 32,81$ $\mu\text{g/l}$ за три експерименталне групе и контролу.

Табела 10. Просечне вредности серумских концентрација β -каротина у лутеалном периоду код синхронизованих грла у истраживању

	Група 1	Група 2	Група 3	Контрола
Просечне вредности ($\mu\text{g/l}$) \pm SEM	$1981,54 \pm 22,64^a$	$1780,90 \pm 19,44^b$	$1670,45 \pm 28,13^B$	$1600,26 \pm 32,81^B$

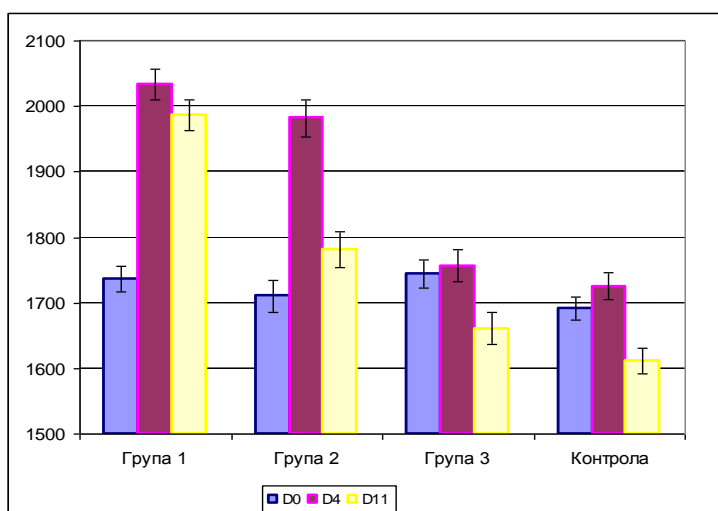
* Статистичка значајност $p < 0.05$ између вредности са различитим словом

Анализа резултата F – теста показала је статистички значајне разлике ($p < 0.05$) између вредности у три експерименталне групе, као и између група 1. и 2., и контролне групе. Једино, није утврђена статистички значајна разлика између вредности у 3. експерименталној групи и контролној групи.



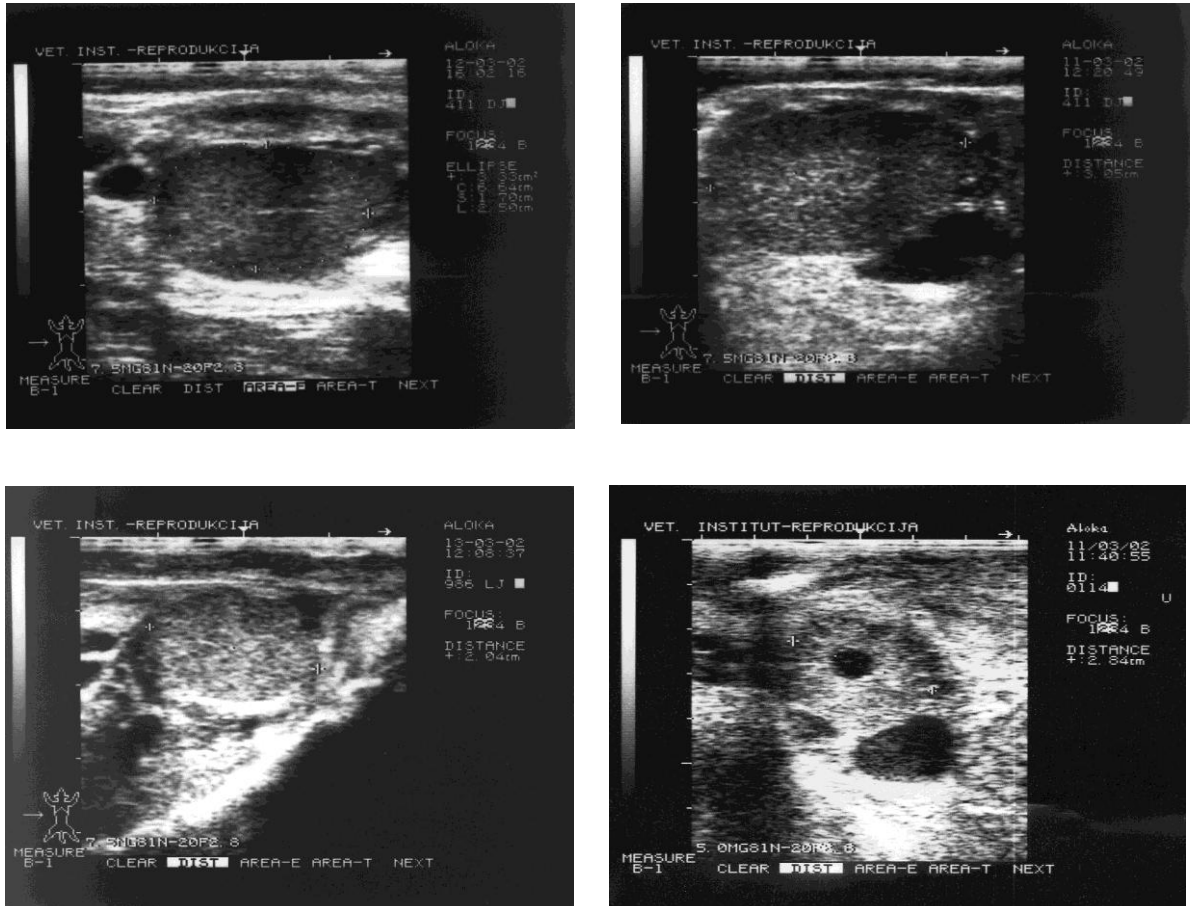
Графикон 4. Дистрибуција концентрација серумског β -каротина, између група у лутеалној фази (Д11)

Следећи динамику дистрибуције β -каротина у циркулацији животиња, укључених у истраживање, могу да се примете приближне вредности пораста серумске концентрације, у прве две групе, 4 дана после апликације, за разлику од константно ниског нивоа у трећој групи и контроли. Са друге стране, посебно је индикативна разлика у паду серумских концентрација 11. дана после апликације. Разлике у променама серумских концентрација приказане су на графикону 5.



Графикон 5. Динамика дистрибуције концентрација серумског β -каротина у периодима синхронизације еструса (D0), овулације (D4) и лутеалне фазе (D11)

Од укупног броја животиња које су биле осемењене, само код 6 (13,3%) није утврђено формирање функционалног жутог тела.



Слика 7. Сонограми јајника 7 дана после овулације – видљива су функционална жута тела са или без централне празнине (cavum)

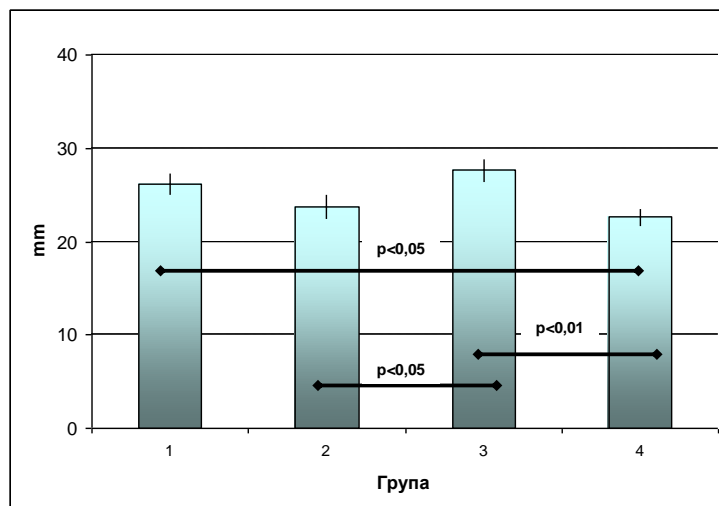
Просечан дијаметар жутих тела код свих животиња, код којих је при ултразвучном прегледу дијагностиковано функционално жуто тело, износио је $24,74 \pm 0,65$ мм. Анализирајући просечне вредности дијаметара жутих тела у појединим групама могли смо да утврдимо максималне вредности у 3.групи ($27,61 \pm 1,95$ мм), и минималне у контролној групи ($22,24 \pm 0,74$ мм).

Табела 11. Просечан дијаметар дијагностикованих функционалних жутих тела у лутеалном периоду (Д11)

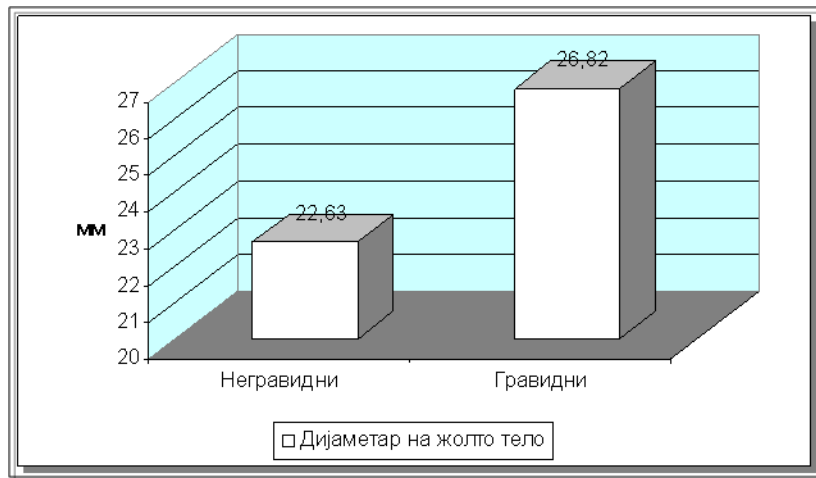
	Група 1	Група 2	Група 3	Контрола
Просечне вредности мм ± SEM	26,15±1,29 ^a	23,71±0,75 ^b	27,61±1,95 ^b	22,24± 0,74 ^b

Статистичка значајност $p < 0.05$ између вредности са различитим словом

Резултати F – теста показују статистички значајне ($p < 0.01$) разлике између вредности све три експерименталне групе, као и између група 1. и 2. и контролне групе ($p < 0.01$)

**Графикон 6.** Разлике у просечним димензијама жутих тела код појединих група

Додатно је анализирана дистрибуција као и разлике у вредностима дијаметра жутих тела између животиња које су остале гравидне и оних које су имале негативну дијагнозу са присуством жутог тела. Тако да је просечна вредност дијаметра жутих тела, једанаестог дана после осемењавања, код крава које су остале гравидне износила 26,82 мм, док је код оних које нису остале гравидне износила 22,63 мм. Резултати Т-тест анализе показали су статистички значајну ($p < 0.01$) разлику између две групе.



Графикон 7. Просечне вредности дијаметра дијагностикованих жутих тела код гравидних и негравидних животиња

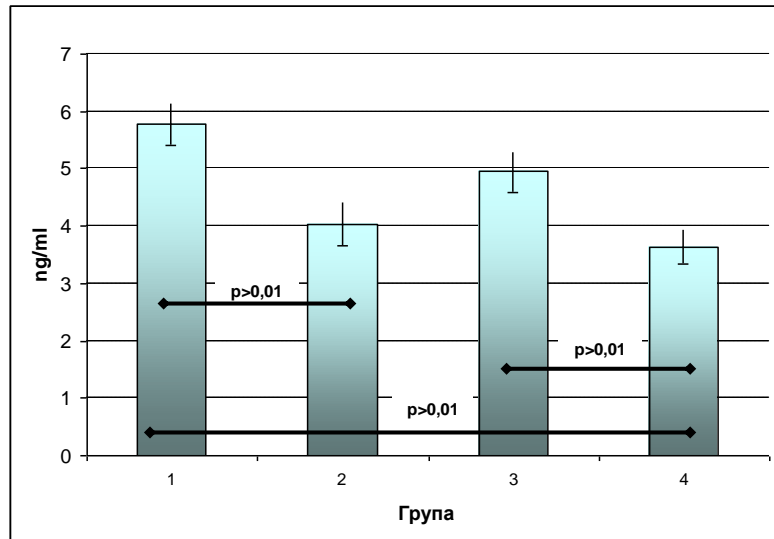
Заједно са растом жутих тела, једанаестог дана после осемењавања, слеђене су и вредности продукције прогестерона (P_4) у све четири групе. Вредности прогестерона, код свих крава са дијагностикованим функционалним жутим телом, кретале су се од 2,23 до 6,59 нг/л, са средњом вредношћу од $4,49 \pm 0,22$ нг/л. Анализирано по групама, просечне вредности прогестерона износиле су $5,78 \pm 0,45$; $4,03 \pm 0,40$; $4,94 \pm 0,32$ и $3,53 \pm 0,29$ нг/л.

Табела 12. Просечне вредности концентрације прогестерона у плазми у лутеалном периоду код крава са дијагностикованим функционалним жутим телом

	Група 1	Група 2	Група 3	Контрола
Просечне вредности (ng/l) \pm SEM	$5,78 \pm 0,45^{a,a^*}$	$4,03 \pm 0,40^b$	$4,94 \pm 0,32^{a,b^*}$	$3,53 \pm 0,29^{a,b^*}$

a : б : в - статистичка значајност $p < 0.05$

Резултати анализе F – теста, по појединим групама, показали су да се вредности из 1. групе статистички значајно ($p < 0.01$) разликују од вредности у 2. групи и контролној групи, док се вредности из 3. групе статистички значајно ($p < 0.05$) се разликују само од вредности контролне групе.



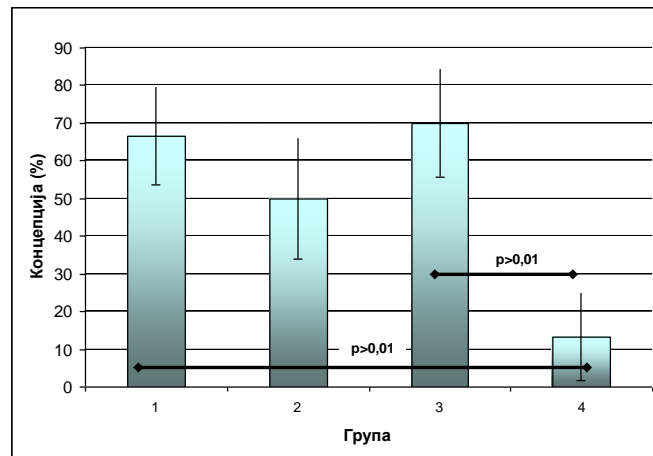
Графикон 8. Дистрибуција плазмених концентрација прогестерона у лутеалном периоду у појединим групама

Тридесетог дана после осемењавања, све животиње укључене у истраживање, су прегледане уз помоћ ултразвука. Циљ је био да се утврди присуство карактеристичне анехогене зоне у једном од рогова утеруса и присуство виталног фетуса. Општи проценат оплодње, анализирајући све животиње, креће се у оквиру уобичајених резултата који се добију при рутинском раду на фарми млечних крава и износи 46,7%.



Слика 8. Сонограми gravidних утеруса приближно 30 дана после осемењавања

Анализа резултата по групама показује значајне разлике ($p < 0.01$) само између 1. и 3. експерименталне групе (66,7%) и контролне групе (13%), док између експерименталних група нису биле детектоване значајне разлике.



Графикон 9. Степен концепције 30 дана после осемењавања

После прикупљања свих података и анализе разлика између вредности испитиваних параметара у појединим групама животиња, укључених у истраживање, анализирани су узајамни односи између параметара, са посебним освртом према утицају концентрација β -каротина на промене појединих параметара. У том циљу коришћена је Pearson – ова корелацијска анализа.

Анализа свих добијених параметара у нашим истраживањима показала је постојање средње корелације $r = 0,4$ ($p < 0,01$) и $r = 0,36$ ($p < 0,05$) између иницијалне серумске концентрације β -каротина (D-3) и концентрација β -каротина на дан овулације (D0) и у лутеалној фази (D7).

Висок степен корелације постоји и између вредности β -каротина на дан овулације (D0) и у лутеалној фази (D7) $r = 0,83$ ($p < 0,01$), као и средњи степен корелације између вредности β -каротина на дан овулације (D0) и концентрације прогестерона (P_4) $r = 0,33$ ($p < 0,05$) и проценат концепције (D30) $r = 0,39$ ($p < 0,01$) и вредности β -каротина у

лутеалној фази (D7) и концентрацији прогестерона (P4) $r = 0,51$ ($p < 0,01$).

Из анализе узајамне повезаности параметара неопходно је да се истакну корелације између дијаметара предовулаторних фоликула (Fol) и процента правовремених овулација (Status) и концентрације естрадиола (E2) ($r = 0,74$; $p < 0,01$ и $r = 0,57$; $p < 0,01$). Исто тако, утврђена је корелација између концентрације естрадиола (E2) и концентрације прогестерона (P4) $r = 0,39$ ($p < 0,05$), као и висока корелација између величине функционалног жутог тела (CL) и концентрације прогестерона (P4) $r = 0,82$ ($p < 0,01$).

Табела 13. Pearson–ова корелациска анализа укупних резултата појединих параметара добивених у истраживању

		D0	D4	Fol	Status	E2	D11	CL	P4	D30
D0	Correlation	1,00	0,40	-0,33	0,02	0,08	0,36	0,25	0,26	0,29
	Sig.		0,01**	0,04*	0,92	0,60	0,02*	0,12	0,11	0,05*
	N	45,00	45,00	41,00	45,00	45,00	45,00	40,00	40,00	45,00
D4	Correlation	0,40	1,00	0,13	0,14	0,21	0,84	0,06	0,33	0,39
	Sig.	0,01**		0,43	0,36	0,17	0,00**	0,73	0,04*	0,01**
	N	45,00	45,00	41,00	45,00	45,00	45,00	40,00	40,00	45,00
Fol	Correlation	-0,33	0,13	1,00	0,74	0,57	0,19	0,18	0,34	0,25
	Sig.	0,04*	0,43		0,00**	0,00**	0,23	0,28	0,04*	0,12
	N	41,00	41,00	41,00	41,00	41,00	41,00	36,00	36,00	41,00
Status	Correlation	0,02	0,14	0,74	1,00	0,67	0,20	0,30	0,43	0,34
	Sig.	0,92	0,36	0,00**		0,00**	0,19	0,06	0,01**	0,02*
	N	45,00	45,00	41,00	45,00	45,00	45,00	40,00	40,00	45,00
E2	Correlation	0,08	0,21	0,57	0,67	1,00	0,20	0,29	0,40	0,35
	Sig.	0,60	0,17	0,00**	0,00**		0,18	0,07	0,01**	0,02*
	N	45,00	45,00	41,00	45,00	45,00	45,00	40,00	40,00	45,00
D11	Correlation	0,36	0,84	0,19	0,20	0,20	1,00	0,26	0,51	0,30
	Sig.	0,02*	0,00**	0,23	0,19	0,18		0,11	0,00**	0,04*
	N	45,00	45,00	41,00	45,00	45,00	45,00	40,00	40,00	45,00
CL	Correlation	0,25	0,06	0,18	0,30	0,29	0,26	1,00	0,83	0,54
	Sig.	0,12	0,73	0,28	0,06	0,07	0,11		0,00**	0,00**
	N	40,00	40,00	36,00	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00
P4	Correlation	0,26	0,33	0,34	0,43	0,40	0,51	0,83	1,00	0,78
	Sig.	0,11	0,04*	0,04*	0,01**	0,01**	0,00**	0,00**		0,00**
	N	40,00	40,00	36,00	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00
D30	Correlation	0,29	0,39	0,25	0,34	0,35	0,30	0,54	0,78	1,00
	Sig.	0,05*	0,01**	0,12	0,02*	0,02*	0,04*	0,00**	0,00**	
	N	45,00	45,00	41,00	45,00	45,00	45,00	40,00	40,00	45,00

** - Статистичка значајност $p < 0,01$; * - Статистичка значајност $p < 0,05$

- D0** - иницијална серумска концентрација β-каротина
D4 - концентрација β-каротина на дан овулације
Fol - дијаметар предовулаторних фоликула
Staus - правовремена овулација
E2 - концентрација естрадиола
D11 - концентрација β-каротина 11. дана после синхронизације еструса
CL - дијаметар функционалног жутог тела
P4 - концентрација прогестерона
D30 - проценат концепције

На самом крају истраживања на основу унетих додатних података о укупној просечној производњи млека на фарми по крави и у испитиваним групама, анализирани су узајамни односи просечних производњи млека. Овај параметар смо укључили да би добили податак о продуктивности у експерименталним групама у односу на просеке саме фарме.

Табела 14. Просечна укупна производња млека код крава с обзиром на дужину лактације

	До 100 дана	100-300 дана	Преко 300 дана			
			Група 1	Група 2	Група 3	Контрола
Просечна млечност (kg) ± SEM	2538,8±52,2	4937,6±94,3	6252,5±242,8	6228,4±251,2	6241,3±286,4	6198,8±230,3

Табела 15. Просечна производња млека код крава сведена на просечну стандардну лактацију (305 дана)

	До 100 дана	100-300 дана	Преко 300 дана			
			Група 1	Група 2	Група 3	Контрола
Просечна млечност (kg) ± SEM	5890,0±83,2	5884,6±121,2	5423,6±155,3	5321,4±165,6	5411,2±131,3	5244,8±120,2

Анализа резултата по групама, као и између експерименталних група не показује статистички значајне разлике.

6. Дискусија

Подстицај да се започне са истраживањем утицаја на β -каротина на репродуктивне параметре повезане са перивулаторниот периодом, било је мноштво различитих резултата, који су добијени од већег броја истраживачких тимова у свету. Резултати свих тих истраживања су се кретали од директног и позитивног утицаја β -каротина, затим, утицаја као провитамина А, преко незначајног утицаја, па све до негативног утицаја на плодност млечних крава.

Истраживани су различити периоди производног и репродуктивног циклуса крава, најчешће перипартални и пуерперални период (до успостављања полног циклуса).

Сматрамо да су велике разлике у резултатима последица неконзистентности истраживачких услова - старости крава, броја животиња укључених у истраживања, начина гајења животиња, лактације, трајање апликације β -каротина, начина апликације β -каротина и дате дозе β -каротина, додавање витамина А и начин исхране контролних животиња, са посебним освртом према нормалној, нижој количини или коришћењу хране са минималним концентрацијама β -каротина.

При постављању истраживачког модела руководили смо се према наводима Guilbert-a, 1935; Bruhn и Oliver, 1978, Kirchgessner, 1987; Kalač и McDonald 2006 за утицај времена и начина складиштења сена, као главног извора β -каротина, те степену његове деградације. Аутори су јединствени у наводима да губитци у садржају β -каротина у сену, после конзервирања и складиштења, могу да износе и до 90%.

Изабрали смо фарму са застарелим системом гајења, где је евидентна лоша концепција производње и складиштења крмних култура, за потребе млечних крава. За исхрану крава коришћено је сено од луцерке, које као биљка, у самом старту, не задовољава нутритивне потребе, пре свега због закашњене кошње, тј. појаве дуге дрвенасте стабљике и цвета. Овакво стање биљке довело је до скоро

потпуног одпадања лисне масе при сушењу и балирању. Уз то, складиштење бала на отвореном простору, у току 5-6 месеци, довело је до додатне деградације β -каротина.

Утицај варијација у исхрани и начину држања, у овом истраживању, настојали смо да смањимо са избором животиња и смештајем истих у једну шталу, где су биле храњене истом храном и на исти начин. Анализа састава волуминозне сточне хране показала је већу количину целулозе (33,15%), док је микробиолошка анализа показала повећану количину бактерија и гљива. Квалитативни и квантитативни састојци концентрата кретали су се у стандардним границама. У концентрат је додат витаминско-минералан премикс, у који је према декларацији укључен и витамин А у количини од 80000 ИЈ/кг, тј. 4000 ИЈ/кг концентроване хране. Процена телесне кондиције показала је да се краве налазе у нормалним границама (BSC - 3,0), што се дужи више на ниској производњи, него на избалансираности оброка.

Главна разлика у експерименталном дизајну, у нашем истраживању, у односу на остале ауторе представља категорија животиња које смо укључили у наш третман. Тако да, за разлику од већине аутора који су следили примипарне или мултипарне животиње у перипарталном или пуерпералном периоду и лактацији, тј. животиње без проблема са плодношћу, животиње у нашем истраживању биле су са нарушеном плодношћу тј. са више неуспешних осемењавања у току једне године после телења, третиране у условима основног недостатка β -каротина у оброку.

У таквим условима, прва информација која нам је била потребна да добијемо почетни основ за даља истраживања било је моментално стање серумског β -каротина. Анализа серума, свих животиња укључених у ово истраживање, показала је средњу вредност од $1718,25 \pm 10,39$ $\mu\text{g/l}$. Ова вредност је виша од вредности Mashhadi и сар. (2003) (855 $\mu\text{g/l}$), али истовремено је нижа од вредности које навеоде Herdt и Stowe (1991), Kolb и Seehawer (1997), Lotthammer (1999), Katsoulos и сар. (2005) како и Alvetra (произвођач Carofertin-a[®]) (1998),

за физиолошке концентрације β -каротина у серуму млечних крава, које су се код свих аутора кретале изнад границе од 2000 $\mu\text{g/l}$. Чак и максималне вредности, измерене код крава у нашем истраживању кретале су се испод ове границе (1941,7 $\mu\text{g/l}$), док су минималне вредности биле далеко ниже (1544,5 $\mu\text{g/l}$). Ови податци указују на недостатак β -каротина у циркулацији, који је могао да се предвиди, због сезоне у којој се изводило истраживање, визуелне контроле сена, периода складиштења и навода аутора о деградацији β -каротина.

После синхронизације естуса, у складу са експерименталним моделом, животиње су биле третиране β -каротином (група 2), витаминско-минералним препаратом (група 3) и комбинацијом оба препарата (група 1), истовремено, животиње у контролној групи (контрола) нису добиле никакав третман. Циљ нам је био да утврдимо динамику пораста β -каротина у крви, код животиња са наглашеним недостатком и проблемима с плодношћу. Већи број аутора је добио убрзан пораст серумске концентрације β -каротина после парентералне апликације (Gossen и Hoedemaker, 2005; Eisele, 1987). Први аутори утврдили су перзистенцију од приближно 60% од максималне концентрације после 20 дана. Супротно од њих, Eisele (1987) је успео да постигне десетероструко повећање после интрамускуларне апликације 500 мг β -каротина.

У нашим истраживањима, 3 дана после мускуларне апликације 200 мг β -каротина, серумска концентрација значајно је порасла, у односу на почетне вредности, и достигла је у просеку око 2000 $\mu\text{g/l}$, при томе, 11 дана после апликације вредности у серуму су се смањиле у просеку за 6%. Утврђена је умерена корелација ($r=0,4$) између вредности серумског β -каротина пре третмана и за време периовулаторног периода, са високом статистичком значајношћу. С обзиром да је Eisele (1987), нагласио да се β -каротин, као липофилно једињење, одржава у циркулацији путем спајања са липопротеинским фракцијама (VLDL, LDL), сматрамо да се смањени пораст у нашим истраживањима, примарно јавља због ниских почетних концентрација

β -каротина у серуму, а секундарно због смањене количине липопротеинских фракција у циркулацији.

Свакако, вредности концентрација у групама, које су добиле једнократну дозу биле значајно више од осталих група, при чему, додатна апликација витаминско-минералног додатка није имала значајнијег утицаја на серумску концентрацију β -каротина ($p > 0.05$).

У тој фази, за потребе нашег истраживања, било је важно да се утврди деловање β -каротина на оваријалну функцију.

Појава знакова полног жара (естрална слуз, хиперемија вулве) била је слаба, док су унутрашњи знаци (хиперемија, „отворен” *portio vaginalis* и цервикална слуз) били добро наглашени. Ови наводи не могу да се доведу у везу са утицајем β -каротина, будући да се нису разликовали од рутинских налаза при гинеколошком прегледу пре осемењавања, посебно код крава са везаним системом гајења. На ову констатацију надовезује се и то да нису биле утврђене значајне статистичке разлике у димензијама предовулаторних фоликула нити између експерименталних група и контролне, нити између вредности самих експерименталних група. Исти су били и резултати анализе вредности естрадиола. Анализа је показала да не постоји значајна разлика у концентрацијама естрадиола у плазми између група. Аналоган овим резултатима је и низак степен корелације између вредности β -каротина и димензија фоликула и естрадиола у плазми ($r = 0,12$ и $0,2$).

И поред тога што већина аутора сматра да β -каротин има позитиван ефекат на функцију јајника (Cooke и Comben 1978, Ascarelli и сар. 1985, Graves-Ноаgland и сар. 1989), тај позитиван ефекат су видели у повећавању функционалног жутог тела и лутеалног ткива као и повећаној продукцији прогестерона, док се само спомиње ређа појава цисти као и успостављање оваријалног циклуса после телења (Kawashima и сар., 2009). Доступна литература није дала директне релевантне податке за утицај β -каротина на раст фоликула и

овулацију, већ само позитивну корелацију између концентрација β -каротина у фоликулима код говеда и у крви (Chew et al. 1984). Ипак, негативна корелација између садржаја β -каротина у фоликуларној течности и дијаметру фоликула индиректно указује на искоришћавање β -каротина од стране фоликуларних ћелија, што на крају резултира растом фоликула (Halilođlu и сар. 2002).

Ако се критички посматра овај закључак, заједно са резултатима Kawashime и сар., (2009) за смањену појаву фоликуларних цисти и резултатима из нашег истраживања, а у оквирима физиолошког тока развоја предовулаторних фоликула, може да се закључи да се β -каротин искоришћава од стране фоликуларних ћелија, подржавајући раст фоликула, све до физиолошких граница, омогућавајући при томе правилан одговор LH – пика.

Следећи период интереса, у нашем истраживању, био је једанаести (11.) дан после синхронизације еструса. То је период максималног раста жутог тела, у којем смо очекивали највеће флукуације β -каротина и одговарајући утицај на оваријалне структуре. Циркулацијске концентрације β -каротина у зависности од третмана животиња разликовале су се у значајној мери. Свакако, у овом периоду анализа промена β -каротина обухваћала је само групе 1. и 2. Тако да је 11-тог дана после администрације β -каротина, забележан значајан пад серумске концентрације ($p < 0.01$) у групи животиња које су биле третиране само Carofertin-ом[®] (~15-20%), иако је концентрација још увек била значајно већа ($p < 0.01$) од номиналних вредности у друге две групе, док се вредности у 1. групи (β -каротин и вит. А), у истом периоду нису значајно смањиле ($p > 0.05$). Ови резултати одговарају вредностима које су добили Gossen и сар. (2004) и Gossen и Hoedemaker (2005) у истом периоду после апликације, но после трократне апликације на групама млечних крава у току 6 недеља у перипарталном и пуерпералном периоду.

Анализирајући вредности добијене у нашем истраживању у односу на резултате горенаведених аутора, могу да се потврде и наводи

Ahlsweda и Lotthammera (1978), за резерве β -каротина у организму високо продуктивних млечних крава за само 3-4 дана. Трократна апликација у размаку од 1-2 недеље, при недостатку β -каротина није резултирала повећањем серумских концентрација, вишом од оне коју смо постигли једнократном апликацијом.

Свакако, у оквирима дискусије за дистрибуцију и искоришћавање β -каротина после парентералне апликације, важно је да се нагласи повећани пад серумске концентрације у групи животиња које су биле третиране само Carofertin-ом[®]. Имајући у виду физиологију искоришћавања β -каротина, неопходно је да се разгледају две позиције. Прва је, задовољавање потреба за β -каротином и друга је задовољавање основних потреба за витамином А.

Већина аутора се слаже да минимална дневна потреба за β -каротином, за краве у лактацији износи 200 мг/дан. На ту вредност треба да се надовеже и минимална дневна потреба од 75000 ИЈ/ дан, која треба да се конвертује из доступног β -каротина у витамин А. Ако се зна да се 1 мг β -каротина конвертује у 400 ИЈ витамина А (Ullrey, 1972; NRC, 1989; NRC, 2001), може да се израчуна да је дневно потребно још 190 мг β -каротина за испуњавање основних потреба одржавања. На тај број треба да се дода још 10% - 20% због искоришћавања β -каротина од стране микроорганизама у преджелуцима (Fernandez и сар. 1976; Weiss, 1998). Груби прорачун нас доводи до вредности од 400-550 мг/дан β -каротина које крава у лактацији треба да добије преко хране.

У нашим експерименталним условима, кабаста компонента, као главни извор β -каротина, објективно је имала велики недостатак истог, колико због самог квалитета луцеркиног сена, толико и због продуженог складиштења. С друге стране, анализа декларисане вредности витамина А у концентрату (2000 ИЈ/кг) и тежина концентрованог оброка, показале су ниже вредности од препоручених.

Недостатак витамина А, у нашем истраживању могли смо да потврдимо и посредно, преко разлика у резултатима перзистенције апликованог β -каротина, у зависности од присутности витамина А у

циркулацији. Значајно смањење вредности серумског β -каротина код животиња из 2. групе, има објашњење у физиолошком механизму примарног надокнађивања недостатка витамина А, конвертујући доступан β -каротин, посебно у утерусу и јајницима (Schweigert, 2003), док се остатак β -каротина користи за друге „независне” функције у организму. Условљеност конверзије β -каротина у витамин А са индивидуалним потребама организма за витамином А потврдили су и During и Harison (2005). Исти аутори, с друге стране, наглашавају да и покрај тога што механизми још увек нису познати, расподела каротиноида са провитаминском активношћу је инхибирана при високим концентрацијама депонованог витамина А.

С друге стране, парентерално додавање витамина А, заједно са β -каротином, као у случају са 1. групом, код животиња са актуелним недостатком обе компоненте, омогућило је да се у једном кратком периоду задовоље потребе за витамином А, а због тога, истовремено да остане већа количина β -каротина, за испуњавање осталих функција.

На почетку дискусије за ефекат β -каротина у лутеалној фази, важно је да се нагласе сличности у ефекту на оваријалне структуре који је постигнут коришћењем комбинације β -каротина и витамина А (група 1.), као и витамина А самостално.

Ефекат на оваријалне структуре, који има комбинација β -каротина и витамина А и витамин А самостално, може да се види у значајним разликама у димензијама жutih тела ($p < 0.05$) и серумској концентрацији прогестерона ($p < 0.01$) у групама 1. и 3. насупрот групи 2. и контролној групи. У сугласности са закључцима Gravesa-Ноaglanda и сар. (1988), утврдили смо позитивну корелацију између концентрације прогестерона и серумских концентрација β -каротина на сам дан овулације $r = 0,33$ ($p < 0,05$) и у лутеалној фази $r = 0,51$ ($p < 0,01$).

Сличност у ефектима β -каротина и витамина А, које смо добили у истраживањима за функцију жutih тела и продукцију прогестерона, може да се објасни преко позитивног ефекта β -каротина на повећање функционалног лутеинског ткива и повећану продукцију прогестерона

(Cooke и Combe in 1978, Ascarelli и сар. 1985, Graves-Hoagland и сар. 1989) и сличну улогу витамина А, у синтези стероидних хормона у јајнику (Zerobin 1987). Ипак, стероидогенеза, под утицајем витамина А, у великој мери се повећава после уласка у жуто тело, што доказује и негативна корелација између серумског витамина А и повећане лутеинске функције, (Graves-Hoagland и сар. 1989; Schweigert, 2003).

У нашем истраживању, један од последњих циљева био је да се утврди могући утицај β -каротина и ретинола на концепцију. Анализа добијених резултата је показала значајан утицај третмана на проценат концепције. У овом случају, комбинација β -каротина и витамина А, као и витамин А самостално, значајно су побољшали концепцију само у односу на контролну групу ($p < 0,01$), док разлике између самих експерименталних група нису биле значајне.

Наше резултате могли смо да упоредимо са оним Arechige и сар. (1998), који су у условима повећане суплементације β -каротина, успели значајно да побољшају концепцију код животиња са сервис периодом већим од 120 дана. Исти аутори нису могли да постигну повећавање концепције код крава са нижим серумским концентрацијама β -каротина. Iwańska и сар. (1985) и Iwańska и Strusińska, (1997), су потврдиле позитиван утицај β -каротина, са или без витамина А, на повећање концепције. Ипак, треба да се нагласи да су истраживања извршена на кравама са нормалним репродуктивним статусом. Dovenski и сар. (1999) и Dovenski и сар. (2007) добили су сличне резултате побољшавајући концепцију животиња третираних β -каротином. Wang и сар. (1987), добили су сличне вредности за концепцију, но без статистички значајних разлика између група са додатим β -каротином и контроле.

За потребе последњег циља, у нашем истраживању, исто тако, упоредили смо укупну производњу млека на фарми, са експерименталним и контролном групом, при чему нису утврђене статистички значајне разлике нити између група и контролне групе, нити у односу на податке за мечност осталих крава на фарми. Ако се

критички посматра овај закључак, може да се закључи да у нашем истраживању β -каротин доприноси побољању здравственог статуса у репродуктивном смислу док производни статус крава остаје непромењен.

Свакако, разгледавајући укупне резултате нашег истраживања, у контексту велике дискрепанције у закључцима већег броја аутора, сматрали смо да је посебно важно да се нагласи да значајна побољшања функције репродуктивних органа, у различитим режимима суплементације β -каротином, највише се базирају на значајном дефициту у организму крава, који треба да се надокнади. Ово у својим закључцима потврђује и већина аутора (Lotthammer, 1979; Ascarelli и сар., 1985; Block и Farmer, 1987, De Kruif и Mijten, 1992). β -каротин је непоходан за бројне функције у организму, независно или као провитамин А, ипак, сматрамо да првенствено треба да се расчисти улога и метаболизам витамина А, као и утицај А хиповитаминозе као главног лимитирајућег фактора за процену улоге β -каротина. У том правцу су и закључци Acordoga и сар. (1986), да дефицит β -каротина неће узроковати последице на плодност, уколико су задовољене потребе за витамином А.

Коначно, анализирајући добијене резултате насупрот квалитети система за гајење, квалитети и квантитети хране и фармског менаџмента, озбиљно треба да се узму у обзир препоруке Fergusona (1996), да је при појави поремећаја плодности у стаду првенствено потребна анализа енергетских потреба, као и недостатка протеина, а затим и анализа витамина и микроелемената.

7. Закључци

На темељу анализе добијених резултата из нашег истраживања можемо да донесемо следеће закључке:

- Ниво β -каротина за одржавање нормалне репродукције у серуму код млечних крава у касном зимском периоду, у режиму исхране сиромашне β -каротином, значајно је нижи у односу на прихваћене вредности;
- Једнократна интрамускуларна апликација β -каротина у дози од 200 мг, узроковала је значајно, али краткотрајно повећање серумског β -каротина;
- Перзистенција серумске концентрације β -каротина условљена је моменталним потребама организма за витамином А;
- Повећање серумског β -каротина, у перивулаторном периоду код крава са утврђеним недостатком, није узроковало значајно побољшање знакова еструса, повећане димензије предовулаторних фоликула и продукцију естрадиола;
- Додавање β -каротина у перивулаторном периоду код крава са утврђеним недостатком, у комбинацији са витамином А, не узрокује значајно побољшање еструса, повећане димензије предовулаторних фоликула и продукцију естрадиола;
- Самосталан третман β -каротином узрокује значајно повечање лутеалног ткива и продукцију прогестерона само код животиња са значајним недостатком β -каротина у организму;
- Витамин А, као примарно терапеутско средство или у комбинацији са β -каротином има значајно већи утицај на повећање лутеалног ткива, продукцију прогестерона и концепцију код животиња са значајним недостатком β -каротина у организму, у односу на самосталан третман β -каротином;

- У условима недостатка витамина А, примарни циљ организма представља искоришћавање доступног β -каротина за надокнађивање недостатка витамина А;
- Побољшање репродуктивних карактеристика, код животиња са дуготрајном функционалном неплодношћу, првенствено се базира на позитивним ефектима корекције функционалног нивоа витамина А, преко парентералне апликације β -каротина;
- Утицај β -каротина, као самосталног фактора, на плодност и здравствени статус крава је минималан у условима недостатка витамина А;
- Парентерално додавање β -каротина не сме да буде замена за лош менаџмент производње сточне хране и генерално исхране, на једној фарми млечних крава.

8. Литература

СПИСАК ЛИТЕРАТУРЕ (Укупно 222 референце)

- Agbaje, G. O., Tayo, O., Chioma G.O. Grace and Ajomale K.O. (2007): Evaluation of Yellow-Rooted Cassava Varieties for Differences in β -Carotene and Gross Energy. *J. Appl. Sci. Res.*, 3(10): 946-948
- Akar, Y., Gazioglu, A. (2006): Relationship between vitamin A and β -carotene levels during the postpartum period and fertility parameters in cows with and without retained placenta. *Bull.Vet. Inst. Pulawy* 50, 93-96
- Ahlswede, L., Lotthammer K. H. (1978): Untersuchungen über eine spezifische, Vitamin-A-unabhängige Wirkung des β -Carotins auf die Fertilität des Rindes, 5. Mitteilung: Organuntersuchungen (Ovarien, Corpora lutea, Leber, Fettgewebe, Uterussektret, Nebennieren) - Gewichts- und Gehaltsbestimmungen. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 85, 7-12
- Akordor, F. Y., Stone, J. B., Walton, J. S., Leslie, K. E., Buchanan-Smith, J. G. (1986): Reproductive performance of lactating Holstein cows fed supplemental beta-carotene. *J. Dairy Sci.* 69(8), 2173-2178
- Akordor, F. Y., Stone, J. B., Walton, J. S., Leslie, K. E., Block, E. and Farmer, B. (1987): The status of beta-carotene and vitamin A in Quebec dairy herds: factors affecting their status in cows and their effects on reproductive performance. *Can. J. Anim. Sci.* 67, 775-788
- Allison, R. D. and R. A. Laven (2000): Effect of vitamin E supplementation on the health and fertility of dairy cows. *Vet. Rec.* 147, 703-708
- Anke, M. (1971): Der Einfluß von Mangan auf die Fruchtbarkeit des Wiederkäuers. *Wiss. Z. Karl-Marx-Univ. Leipzig, Math.-naturwiss. R.* 20, 420-478
- Arechiga, C. F., C. R. Staples, L. R. McDowell and P. J. Hansen (1998a): Effects of timed insemination and supplemental beta-carotene on reproduction and milk yield of dairy cows under heat stress. *J. Dairy Sci.* 81, 390-402
- Arechiga, C. F., Vazquez-Flores, S., Ortiz, O., Hernandez-Ceron, J., Porras, A., McDowell, L. R., and Hansen, P. J. (1998b): Effect of injection of beta-carotene or vitamin E and selenium on fertility of lactating dairy cows. *Theriogenology* 50(1), 65-76
- Arikan, S. and R. G. Rodway (2000a): Effects of high density lipoprotein containing high or low beta-carotene concentrations on progesterone production and beta-carotene uptake and depletion by bovine luteal cells. *Anim. Reprod. Sci.* 62, 253-263

- Arikan, S. and R. G. Rodway (2000b): Effect of cyclodextrin-encapsulated beta-carotene on progesterone production by bovine luteal cells. *Anim. Reprod. Sci.* 64, 149-160
- Ascarelli, I., Z. Edelman, M. Rosenberg and Y. Folman (1985): Effect of dietary carotene on fertility of high-yielding dairy cows. *Anim. Prod.* 40, 195-207
- Ashes, J. R., R. W. Burley, J. B. Davenport and G. S. Sidhu (1982): Effects of dietary supplements of protected lipids on the concentration and transport of beta-carotene and cholesterol in bovine blood and milk: unusual chromatographic behaviour of the high-density lipoprotein with high levels of beta-carotene. *J. Dairy Res.* 49, 39-49
- Ashes, J. R., R. W. Burley, G. S. Sidhu and R. W. Sleight (1984): Effect of particle size and lipid composition of bovine blood high density lipoprotein on its function as a carrier of beta-carotene. *Biochim. Biophys. Acta* 797, 171-177
- Ashworth, C. J. (1994): Nutritional factors related to embryonic mortality in the domestic species. In: M. T. Zavy and R. D. Geisert (Hrsg.): *Embryonic mortality in domestic species*. CRS Press, Boca Raton, 179-210
- Aslan, S., J. Handler and K. Arbeiter (1998): Frühgravidität und embryonale bzw. frühfetale Mortalität bei der Kuh - Gelbkörperdynamik, Progesteron-, Vitamin E-, Vitamin-B12-, β -Carotin- und Folsäurekonzentrationen im peripheren Blut. *Wien. Tierärztl. Mschr.* 85, 141- 147
- Bendich, A. (1993). Biological functions of dietary carotenoids, *Ann. New York Acad. Sci.* 691, 61-67
- Bindas, E. M., F. C. Gwazdauskas, R. J. Aiello, J. H. Herbein, M. L. McGilliard and C. E. Polan (1984a): Reproductive and metabolic characteristics of dairy cattle supplemented with beta-carotene. *J. Dairy Sci.* 67, 1249-1255
- Bindas, E. M., F. C. Gwazdauskas, M. L. McGilliard and C. E. Polan (1984b): Progesterone responses to human chorionic gonadotropin in dairy cattle supplemented with beta-carotene. *J. Dairy Sci.* 67, 2978-2985
- Block, E. and B. Farmer (1987): The status of beta-carotene and vitamin A in Quebec dairy herds: factors affecting their status in cows and their effects on reproductive performance. *Can. J. Anim. Sci.* 67, 775-788
- Boehnke, H.-J., J. Ehlers and K. H. Lotthammer (1993): Blutuntersuchungen zur Spurenelementversorgung beim Rind. *Milchpraxis* 31, 16-19
- Bonsembiante, M., G. Bittante and I. Andrighetto (1980): Effect of beta-carotene on the fertility of cows given diets supplemented with vitamin A.

Zootecnica e Nutrizione Animale 6, 47-58

Bremel, D. H., R. W. Hemken, G. Heersche, L. A. Edgerton and D. Olds (1982): Effects of β -carotene on metabolic and reproductive parameters in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 65, Suppl.1, 178 (Abst.)

Britt, J. H. (1985): Enhanced reproduction and its economic implications. J. Dairy Sci. 68, 1585-1592

Bruhn, J. C. and Oliver J.C. (1978): Effect of Storage on Tocopherol and Carotene Concentrations in Alfalfa Hay. J. Dairy Sci. 61, No.7, 980-982

Brüggemann, J. u. K.-H. Niesar (1955): Der Nachweis eines den Vitamin A-Gehalt der Milch beeinflussenden Faktors im Eutergewebe des Rindes. Milchwiss. 10, 223-225

Buchanan, J. G. S. (1986): Reproductive performance of lactating Holstein cows fed supplemental betacarotene. J. Dairy Sci. 69, 2173-2178

Burgstaller, G., P. Matzke, W. Hollwich, J. Kogel, O. Kreuzberg u. H. Zucker (1980): Untersuchungen zur Versorgung von Milchkühen mit β -Carotin und Vitamin A, 1. Mitteilung: Einfluß auf den Blutspiegel. Zbl. Vet. Med. A 27, 485-494

Butler, W. R. and R. D. Smith (1989): Interrelationships between energy balance and post partum reproductive function in dairy cattle. J. Dairy Sci. 72, 767-783

Cetinkaya, N. and H. Ozcan (1991): Investigation of seasonal variations in cow serum retinol and beta-carotene by high performance liquid chromatographic method. Comp. Biochem. Physiol. A 100, 1003-1008

Chandler, P. (1997): Milk fever may be caused by potassium and sodium, not calcium. Feedstuffs 69, 10-23

Chawla, R. and H. Kaur (2001): Isocratic HPLC method for simultaneous determination of β -carotene, retinol and alpha-tocopherol in feeds and blood plasma. Ind. J. Dairy Sci. 54, 84-90

Chew, B. P., Holpuch, D. M., and O'Fallon J. V. (1984): Vitamin A and beta-carotene in bovine and porcine plasma, liver, corpora lutea, and follicular fluid. J. Dairy Sci. 67, 1316-1322

Chew, B. P. (1993): Role of carotenoids in the immune response. J. Dairy Sci. 76, 2804-2811

Cooke, B. C. and N. Comben (1978): A study of the relationships between beta-carotene and fertility problems in dairy cows. British Society of Animal Production. Paper summaries. Winter Meeting 4, 45 (Abst.)

- Coppock, R. W., M. S. Mostrom, C. G. Sparling, B. Jacobsen and S. C. Ross, (1990): Apparent zearalenone intoxication in a dairy herd from feeding spoiled acid treated corn. *Vet. Hum. Toxicol.* 32, 246-248
- Daniel, L. R., B. P. Chew, T. S. Tanaka and L. W. Tjoelker (1991a): β -Carotene and vitamin A effects on bovine phagocyte function in vitro during the peripartum period. *J. Dairy Sci.* 74, 124-131
- Daniel, L. R., B. P. Chew, T. S. Tanaka and L. W. Tjoelker (1991b): In vitro effects of beta-carotene and vitamin A on peripartum bovine peripheral blood mononuclear cell proliferation. *J. Dairy Sci.* 74, 911-915
- De Kruif, A., u. Mijten, P. (1992): Das Verhältnis zwischen Fütterung und Fruchtbarkeit beim Rind. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 105, 271-279
- Dembinski, Z. and M. Bronicki (1994): Progesterone P-4 level in blood and the values of selected fertility indexes in cows fed various doses of carotenes. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 38, 115-118
- Dembinski, Z. and M. Bronicki (1996): Influence of different amounts of beta-carotene in food on progesterone level in blood of dairy cows. *Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej w Szczecinie* 33, 15-18
- Dijkhuizen, A. A., J. Stelwagen and J. A. Renkema (1984): Economic aspects of reproductive failure in dairy cattle, 1. Financial loss at farm level. *Prev. Vet. Med.* 3, 251-263
- Dohoo, J. R., S. W. Martin and A. H. Meek (1984): Disease, production and culling in Ontario dairy cattle. *Can. Vet. J.* 25, 106-110
- Довенски, Т., Љ. Кочоски, П. Тројачанец, В. Петков, К. Поповски, Г. Мицковски (1997): Ултразвучно следење на развитокот на фоликулинските бранови во текот на естралниот циклус кај кравите. 3. Симпозиум за размножување на животните, Зборник на резимеа, 138
- Dovenski, T., Lj. Kocoski, P. Trojacanec, V. Petkov, K. Popovski, G. Mickovski, Florina Popovska-Percinic and Lj. Mickov (1999): Comparison of ultrasonic morphology of bovine corpora lutea and plasma progesterone concentration during estrous cycle and early pregnancy. *Macedonian Journal of Reproduction*, 1, 47-57
- Dovenski, T., G. Mickovski, K. Popovski, P. Trojacanec, Lj. Kocoski, V. Petkov, R. Ickov, I. Naletovski, Lj. Mickov, V. Ivkov and N. Ivancev (1999): Use of the β -carotene for treatment of reproductive disorders in cows. *Macedonian Veterinary Review*, 1/2, 79-86
- Dovenski, T., P. Trojacanec, Lj. Kocoski, V. Petkov, K. Popovski, and S. Trojacanec (2007): Efficiency of beta-carotene for treatment of ovarian disorders in dairy cows, *Reproduction in Domestic Animals*, Vol. 42, No.2 116

- Driskell, W.J., Bashor, M.M., Neese, J.W. (1985): Loss of vitamin A in long-term stored, frozen sera. *Clin Chem. Acta*, 31; 6(1):25-30
- Ducker, M. J., R. A. Haggett, W. J. Fisher, S. V. Morant, G. A. Bloomfield, M. I. Gurr and J. D. Edwards Webb (1981): An investigation of the effect of level of beta-carotene on the fertility of dairy cows and heifers. National Institute for Research in Dairying, UK Report 1981, 42 (Abst.)
- Ducker, M. J., N. H. Yarrow, G. A. Bloomfield and J. D. Edwards Webb (1984): The effect of beta-carotene on the fertility of dairy heifers receiving maize silage. *Animal Prod.* 39, 9-16
- During, A. and Harrison E.H. (2005) An in vitro model to study the intestinal absorption of carotenoids. *Food Research International.* 38, 8-9 1001-1008
- Edem, D. O. (2009): Vitamin A: A Review. *Asian J. Clin. Nutr.* 1 (1) 65-82
- Edwards, R.G. 1974. Follicular fluid. *J Reprod Fertil* 37:189-219
- Eisele, W. (1987): β -Carotin und Vitamin A in Blut und Milch des Rindes nach parenteraler und oraler Applikation von β -Carotin. München, Univ., Tierärztl. Fak., Diss.
- Failing, K., K. Fischer and B. Hoffmann (1998): Erhebungen zum Fruchtbarkeitsstatus von Milchkühen, Teil 2: Multifaktorielle Beziehungen zu Blutparametern sowie dem allgemeinen und gynäkologischen Status. *Tierärztl. Umschau* 53, 467-472
- Ferguson, J. D. and W. Chalupa (1989): Impact of protein nutrition on reproduction in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 72, 746-766
- Ferguson, J. D. (1996): Diet, production and reproduction in dairy cows. *Anim. Feed Sci. Techn.* 59, 172-184
- Fernandez, S. C., P. Budowski, I. Ascarelli, H. Neumark and A. Bondi (1976): Pre-intestinal stability of beta-carotene in ruminants. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 46, 439-445
- Fischer, K. (1996): Erhebungen zum Fruchtbarkeitsstatus von Milchkühen, Beziehungen zu Blutparametern sowie dem allgemeinen und gynäkologischen Status-Eine explorative Datenanalyse. Gießen, Univ., Vet. med. Fak., Diss.
- Flachowsky, G. (1999): Zur Vitaminversorgung von Milchkühen. *Übers. Tierernährung* 27, 29-64
- Folman, Y., I. Ascarelli, Z. Herz, M. Rosenberg, M. Davidson and A. Halevi (1979): Fertility of dairy heifers given a commercial diet free of beta-carotene. *Br. J. Nutr.* 41, 353-359

- Folman, Y., M. Rosenberg, I. Ascarelli, M. Kaim and Z. Herz (1983): The effect of dietary and climatic factors on fertility, and on plasma progesterone and oestradiol-17 beta levels in dairy cows. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 19, 863-868
- Folman, Y., Ascarelli, I., Kraus D., and Barash, H. (1987): Adverse effect of beta-carotene in diet on fertility of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 70(2), 357-366
- Folman, Y., M. Kaim, Z. Herz and M. Rosenberg (1990): Comparison of methods for the synchronisation of estrous cycles in dairy cows. 2. Effects of progesterone and parity on conception. *J. Dairy Sci.* 73, 2817-2825
- Friesecke, H. (1978): Beta-Carotin und die Fruchtbarkeit des Rindes. Hoffmann-LaRoche AG, Grenzach-Wyhlen
- Gawienowski, A. M., M. Stacewicz-Sapuncakis and R. Longley (1974): Biosynthesis of retinal in bovine corpus luteum. *J. Lipid Res.* 15, 375-379
- Gimeno, E., A. I. Castellote, R. M. Lamuela-Raventós, M.C. de la Torre-Boronat, and M.C. López-Sabater (2001): Rapid high-performance liquid chromatographic method for the simultaneous determination of retinol, α -tocopherol and β -carotene in human plasma and low-density lipoproteins. *J. of Chrom. B: Biomed. Sci. and Appl.* 758, 2, 315-322
- Gómez E., J.N. Caamaño, A. Rodríguez, C. De Frutos, N. Facal, C. Díez (2006): Bovine early embryonic development and vitamin A. *Reprod. Domest. Anim.* 41, 2, 63-71
- Gossage C., M. Deyhim, P. B. Moser-Veillon, L. W. Douglas, T. R. Kramer (2000): Effect of beta-carotene supplementation and lactation on carotenoid metabolism and mitogenic T lymphocyte proliferation. *Am J Clin Nutr.* 71, 950-955
- Gossen, N., Feldmann, M., Hoedemaker, M. (2004): Effect of parenteral supplementation with beta-carotene in the form of an injection solution (Carofertin) on the fertility performance of dairy cows. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*, 111, 14-21
- Gossen, N., Hoedemaker, M. (2005): Effect of beta-carotin serum concentration on the reproductive performance in dairy cows. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 118, 326-33
- Graves-Hoagland, R. L., Hoagland, T. A., and Woody, C. O. (1988): Effect of beta-carotene and vitamin A on progesterone production by bovine luteal cells. *J. Dairy Sci.* 71, 1058-1062
- Graves-Hoagland, R. L., T. A. Hoagland and C. O. Woody (1989): Relationship of plasma beta-carotene and vitamin A to luteal function in postpartum cattle. *J. Dairy Sci.* 72, 1854-1858

- Greenberg, L. G., F. Bristol, B. D. Murphy and B. Laarveld (1986): Beta-carotene does not influence fertility in beef heifers. *Theriogenology* 26, 491-508
- Grummer, R. R. and J. H. Clark (1980): Effect of nitrogen solubility on milk yield, milk composition and ruminal degradation of protein. *J. Dairy Sci.* 63, Suppl., 139 (Abst.)
- Gugger, E. T. and J. W. Erdman, Jr. (1996): Intracellular beta-carotene transport in bovine liver and intestine is not mediated by cytosolic proteins. *J. Nutr.* 126, 1470-1474
- Guilbert, R. H. (1935): Factors affecting the carotene content of alfalfa hay and meal. *The Journal of Nutrition* . 1, vol. 10, 45-62
- Günther (1980): Vitamin-A- und β -Carotinversorgung in der Rinderfütterung. *Bayr. Landwirtsch. Jahrb.* 57, 238-251
- Haliloğlu, S., Baspınar, N., Serpek, B., Erdem H. and Bulut Z. (2002): Vitamin A and β -carotene levels in plasma, corpus luteum and follicular fluid of cyclic and pregnant cattle. *Reprod. Dom. Anim.* 37, 96-99
- Hanck, A. B., Kuenzle C. C. (1991): *Vitamin A*. Verlag Paul Parey, Berlin
- Haraszti, J., Huszenicza, G., Molnar L. and Blaskovits A. (1984): Effect of periparturient lipid mobilization on serum total carotene and vitamin A concentrations in cattle. *Acta Vet. Hung.* 32, 193-203
- Hartmann, P. E., J. G. Harris and A. K. Lascelles (1966): The effect of oil-feeding and starvation on the composition and output of lipid in the thoracic duct lymph in the lactating cow. *Aust. J. Biol. Sci.* 19, 635-644
- Hasselmann, L., H. Munchow, V. Manzke, W. Schneeweiss, F. Ahrens, R. Schubert, G. Flachowsky, R. Bitsch and G. Jahreis (1999): Zum Einfluß von β -Carotinzulagen auf den Zellgehalt der Rohmilch sowie auf die Fruchtbarkeitsleistung bei Milchkühen unter Praxisbedingungen. In: *Symp. Vit. Zusatzst. Ernähr.*, 22.-23.9.1999, Jena (Thüringen), 134-139
- Heinz, E. and A. Herzog (1982): Erste Praxiserfahrungen mit dem Einsatz eines synthetischen β -Carotins im Rahmen der zuchthygienisch-prophylaktischen Betreuung von Milchkuhherden. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 95, 214-217
- Hemken, R. W. and D. H. Bremel (1982): Possible role of beta-carotene in improving fertility in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 65, 1069-1073
- Herdt, T. H. and H. D. Stowe (1991): Fat-soluble vitamin nutrition for dairy cattle. *Veterinary Clinics of North America, Food Animal Practice* 7, 391-415
- Hidalgo, C., C. Díez, P. Duque, J. M. Prendes, A. Rodríguez, F. Goyache, I. Fernández, N. Facal, S. Ikeda, C. Alonso-Montes and E. Gómez (2005):

Oocytes recovered from cows treated with retinol become unviable as blastocysts produced in vitro. *Reproduction* 129 411–421

Hininger, A.I., A. Meyer-Wenger, U. Moser, A. Wright, S. Southon, D. Thurnham, M. Chopra, H. Van Den Berg, B. Olmedilla, A. E. Favier, A. M. Roussel (2001): No significant effects of lutein, lycopene or β -carotene supplementation on biological markers of oxidative stress and LDL oxidizability in healthy adult subjects. *J Am Coll Nutr.* 20, 232-238

Hino, T., N. Andoh and H. Ohgi (1993): Effects of beta-carotene and alpha-tocopherol on rumen bacteria in the utilization of long-chain fatty acids and cellulose. *J. Dairy Sci.* 76, 600-605

Holt, A. J., R. G. Rodway and J. B. Findley (1995): Studies on β -carotene in bovine corpus luteum. *J. Reprod. Fertil.* 15, 46 (Abst.)

Höltershinken, M., K. Maiworm and H. Scholz (1996): Mykotoxikose beim Rind - Probleme auch in Norddeutschland. *Prakt. Tierarzt* 77, 9-14

Horst, R. L., J. P. Goff, T. A. Reinhardt and D. R. Buxton (1997): Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 80, 1269-1280

Hurley, W. L. and R. M. Doane (1989): Recent developments in the roles of vitamins and minerals in reproduction. *J. Dairy Sci.* 72, 784-804

Inaba, T., A. Inoue, R. Shimizu, Y. Nakano and J. Mori (1986a): Plasma concentrations of progesterone, estrogens, vitamin A and beta-carotene in cows retaining fetal membranes. *Jap. J. Vet. Sci.* 48, 505-508

Inaba, T., M. Mezan, R. Shimizu, Y. Nakano and J. Mori (1986b): Plasma concentrations of beta-carotene and vitamin A in cows with ovarian cyst. *Jap. J. Vet. Sci.* 48, 1275-1278

Inaba, T., M. Mezan, R. Shimizu, T. Ono and J. Mori (1987): Effects of beta-carotene and vitamin A on progesterone production by cultured bovine granulosa cells. *Jap. J. Vet. Sci.* 49, 1021-1025

Ивановски, П. (1985): Влијанието на еколошките фактори врз развитокот приносот и квалитетот на некои поважни повеќегодишни фуражни култури. Докторска дисертација. Земјоделски факултет, Скопје, 117-119

Iwańska, S., Lewicki, C., Rybicka, M. (1985). The effect of beta carotene supplementation on the beta caroten and vitamin A levels of blood plasma and some fertility indices of dairy cows. *Arch Tierernahr*, 35(8), 563-570

Iwańska, S., Lewicki, C., Falkowska, A., Strusińska, D. (1986): On the importance of beta carotene supplementation for calves. *Arch Tierernahr*, 36(1):71-78

Iwańska, S., Strusińska, D. (1997): The effect of beta-carotene and vitamins A, D₃ and E on some reproductive parameters in cows. *Acta Vet Hung*, 45(1):95-107

Jackson, P. S. (1981): A note on a possible association between plasma beta-carotene levels and conception rate in a group of winter-housed dairy cattle. *Anim. Prod.* 32, 109-111

Jalal F, Nesheim MC, Agus Z, Sanjur D. and Habicht JP (1998). Serum retinol concentrations in children are affected by food resources of β -carotene, fat intake, and antehelminthic drug treatment. *American Journal of Clinical Nutrition.* 68: 623-629

Johnston, L.A., Chew, B.P. (1984): Peripartum changes in plasma and milk vitamin A and β -carotene among dairy cows with or without mastitis. *J Dairy Sci.* 67, 1832-1840

Jukola, E., Hakkarainen, J., Saloniemi, H., and Sankari, S. (1996a): Effect of selenium fertilization on selenium in feedstuffs and selenium, vitamin E, and beta-carotene concentrations in blood of cattle. *J. Dairy Sci.* 79(5), 831-837

Jukola, E., Hakkarainen, J., Saloniemi, H. and Sankari S. (1996b): Blood selenium, vitamin E, vitamin A, and beta-carotene concentrations and udder health, fertility treatments, and fertility. *J. Dairy Sci.* 79(5), 838-845

Kalač, P., Kyzlink, V. (1980): The enzymic nature of the degradation of beta-carotene in red clover and in other forage crops during silagemaking with acid additives. *Anim. Feed Sci. and Technology.* 5 (1), 59-68

Kalač, P., Peter McDonald, P. (1981): A review of the changes in carotenes during ensiling of forages *J. Sci. Food and Agriculture.* 32(8), 767-772

Kappel, L. C., Ingraham, E. B., J. Morgan, M., Dixon, J. M., Zeringue, L., Wilson D., and Babcock, D. K. (1984): Selenium concentrations in feeds and effects of treating pregnant Holstein cows with selenium and vitamin E on blood selenium values and reproductive performance. *Am. J. Vet. Res.* 45, 691-694

Karlson P. (1989): *Biokemija za studente kemije i medicine.* Školska knjiga, Zagreb.

Katsoulos, P. D., Panousis, N., Roubies N., Christaki E. and Karatzias H. (2005): Effects on Blood Concentrations of Certain Serum Fat-soluble Vitamins of Long-term Feeding of Dairy Cows on a Diet Supplemented with Clinoptilolite. *J. Vet. Med. A* 52, 157–161

Kawashima C., Kida K., Schweigert F.J. and Miyamoto A. (2009): Relationship between plasma β -carotene concentrations during the peripartum period and ovulation in the first follicular wave postpartum in dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 111:105-111

- Kennedy B.W. (1989): Introduction to Linear Models in Animal breeding. University of Guelph. Canada.
- Kessler, J., H. Friesecke and P. Kunz (1991): Beta-Carotin: Versorgung der Milchkuh während der Winterfütterung. Landwirtschaft Schweiz 4, 203-206
- Kirchgessner, M. (1987): Experimental results of trace element research relating to nutrition physiology and metabolism. Basle, Roche Vitamins & Fine Chemicals Division.
- Kirsche, B., M. Schlenzig, W. I. Ochrimenko and G. Flachowsky (1987): Influence of beta-carotene supplementation on carotene content of ovaries in heifers. Arch. Anim. Nutr. 37, 995-999
- Kolb, E. (1994): The problem of a high content of vitamin A in the liver of calves, cattle, sheep and swine for the consumer. Amount of accumulation and mechanism of teratogenic effect (review article). Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 107, 342-347
- Kolb, E. and K. Elze (1995): Durch Energiemangel beim Rind ausgelöste Fortpflanzungsstörungen. Prakt. Tierarzt 76, 623-626
- Kolb, E. and J. Seehawer (1997): Die Bedeutung der Carotine und des Vitamin A für die Fortpflanzung bei Rindern, Pferden und Schweinen - eine Übersicht. Prakt. Tierarzt 78, 783-789
- Kolb, E. (1998): Verwertung und Anwendung von Vitaminen bei Haustieren. Hoffmann-LaRoche AG, Grenzach-Wyhlen, 25-34
- Kolb, E. and J. Seehawer (1998): Die Entwicklung des Immunsystems und des Vitamingehalts beim Rinderfetus und beim Kalb sowie die Förderung der Aktivität durch Verabreichung von Vitaminen -eine Übersicht. Tierärztl. Umschau 53, 723-730
- Koopman, J. J., A. Wijbenga and A. C. M. Bloem (1971): Enkele waarnemingen over het caroteen- en vitamine A-gehalte van levers bij rundvee. Tijdschr. Diergeneesk. 96, 1019-1027
- Kostoglou, P., S. C. Kyriakis, A. Papasteriadis, N. Roumpies, C. Alexopoulos and K. Saoulidis (2000): Effect of β -carotene on health status and performance of sows and their litters. J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr. 83, 150-157
- Krieger, K. u. F. J. Schweigert (1993): Verhalten der fettlöslichen Vitamine A, E und des β -Carotins während des Trockenstehens beim Rind. In: Symp. Vit. Zusatzst. Ernähr., 30.09.-01.10.1993, Jena (Thüringen), 235-238
- Krinsky, N. I., D. G. Cornwell and J. L. Oncley (1958): The transport of vitamin a and carotinoids in human plasma. Arch. Biochem. Biophys. 73, 233-246

- Kurz, E., W. A. Rambeck and H. Zucker (1984): Verteilung des β -Carotins auf die Serumlipoproteine bei Milchkühen. Zbl. Vet. Med. A 31, 174-181
- Larson, L. L., S. E. Wallen, F. G. Owen and S. R. Lowry (1983): Relation of age, season, production, and health indices to iodine and beta-carotene concentrations in cow's milk. J. Dairy Sci. 66, 2557-2562
- LeBlanc, S. J., T. F. Duffield, K. E. Leslie, K. G. Bateman, J. TenHag, J. S. Walton and W. H. Johnson (2002): The effect of prepartum injection of vitamin E on health in transition dairy cows. J. Dairy Sci. 85, 1416-1426
- LeBlanc, T. H. Herdt, W.M. Seymour, T. F. Duffield, K. E. Leslie, (2004): Peripartum serum vitamin E, retinol, and beta-carotene in dairy cattle and their associations with disease. J. Dairy Sci. 87, 609-619
- Leidl, W., R. Porzig and R. Stolla (1987): Untersuchungen über die Wirkungen einer β -Carotinzufütterung auf die Fruchtbarkeit von Rindern, 1. Mitteilung: Blutkonzentrationen und diagnostische Möglichkeiten. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 100, 1-6
- Lotthammer, K. H., L. Ahlswede and H. Meyer (1976): Untersuchungen über eine spezifische Vitamin-A-unabhängige Wirkung des β -Carotins auf die Fertilität des Rindes. 2. Mitteilung: Weitere klinische Befunde und Befruchtungsergebnisse. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 83, 353-358
- Lotthammer, K. H. and L. Ahlswede (1977): Untersuchungen über eine spezifische, Vitamin-A-unabhängige Wirkung des β -Carotins auf die Fertilität des Rindes, 3. Mitteilung: Blutserumuntersuchungen (β -Carotin, Vitamin A, SGOT, Gesamtcholesterin, Glukose, anorganischer Phosphor). Dtsch. Tierärztl. Wschr. 84, 220-226
- Lotthammer, K. H. (1978): Importance of beta-carotene for fertility of dairy cattle. Tierzüchter 30, 520-522
- Lotthammer, K. H. (1979): Importance of beta-carotene for the fertility of dairy cattle. Feedstuffs. 51, 37-38
- Lotthammer, K. H. (1985a): Auswirkungen einer erhöhten Aufnahme einiger Mengen- und Spurenelemente sowie von Nitrat über wirtschaftseigene Futtermittel auf die Gesundheit und Fruchtbarkeit von Milchkühen. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 92, 205-244
- Lotthammer, K. H. (1985b): Ursachen und Maßnahmen beim primär nicht infektiösen Genitalkatarrh des Rindes. Prakt. Tierarzt. 66, 79-84
- Lotthammer, K. H. (1999a): Klinisch-chemische Untersuchungen bei bestandsweise auftretenden Fruchtbarkeitsstörungen. In: E. Grunert u. A. De Kruif (Hrsg.): Fruchtbarkeitsstörungen beim weiblichen Rind. Parey Buchverlag, Berlin, 62-66

- Lotthammer, K. H. (1999b): Umweltbedingte Fruchtbarkeitsstörungen. In: E. Grunert u. A. De Kruif (Hrsg.): Fertilitätsstörungen beim weiblichen Rind. Parey Buchverlag, Berlin, 320-321
- Marcek, J. M., L. H. Appell, C. C. Hoffman, P. T. Moredick and L. V. Swanson (1985): Effect of supplemental beta-carotene on incidence and responsiveness of ovarian cysts to hormone treatment. *J. Dairy Sci.* 68, 71-77
- Markusfeld, O., N. Galon and E. Ezra (1997): Body condition score, health, yield and fertility in dairy cows. *Vet. Rec.* 141, 67-72
- Marschang (1985): Carotinversorgung beim Rind - Einfluß auf das Karankheitsgeschehen. *Tierzüchter* 37, 267-269
- Martens, H., G. Breves and S. Leonhard-Marek (2000): Funktionen der Vormägen. In: W. v. Engelhardt and G. H. Breves (Hrsg.): *Physiologie der Haustiere*. Enke Verlag, Stuttgart, 359-360
- Mashhadi, A. G., T. Bazargani, S. Bokaie, M. A. Poorkabireh (2003): Seasonal changes of vitamin a and beta-carotene levels of serum and liver in holstein cows. *Acta vet. scand.* 44, Suppl.1, 255 (Abst.)
- Matos H.R., S.A. Marques, O.F. Gomes, A.A. Silva, J.C. Heimann, P. Di Mascio, M.H. Medeiros (2006): Lycopene and beta-carotene protect in vivo iron-induced oxidative stress damage in rat prostate. *Braz J. Med. Biol. Res.* 39, 2, 203-210
- Meyer, H., L. Ahlswede and K. H. Lotthammer (1975): Untersuchungen über eine spezifische Vitamin-A-unabhängige Wirkung des β -Carotins auf die Fertilität des Rindes. 1. Mitteilung: Versuchsanstellung, Körperentwicklung und Eierstocksfunktion. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 82, 444-449
- Michal, J. J., L. R. Heirman, T. S. Wong, B. P. Chew, M. Frigg and L. Volker (1994): Modulatory effects of dietary beta-carotene on blood and mammary leukocyte function in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77, 1408-1421
- Miller, K. W., Lorr, N. A. and Yang, C. S. (1984): Simultaneous determination of plasma retinol, alpha-tocopherol, lycopene, alphacarotene and beta-carotene by high-performance liquid chromatography. *Anal. Biochem.* 138, 340-345
- Miller, J. K., E. Brzezinska-Slebodzinska and F. C. Madsen (1993): Oxidative stress, antioxidants, and animal function. *J. Dairy Sci.* 76, 2812-2823
- Morrow, D. A., D. Hillman, A. W. Dade and H. Kitchen (1979): Clinical investigation of dairy herd with fat cow syndrome. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 174, 161-165

- Nehring, K. and M. Hoffmann (1967): Die Carotinverdaulichkeit beim Wiederkäuer. Arch. Tierernähr. 17, 263-279
- Noller, C. H., W. E. Castro, W. E. Wheeler, D. H. Hill and N. J. Moeller (1977): Effect of phosphorus supplementation on growth rate, blood minerals and conception rate of dairy heifers. J. Dairy Sci. 60, 1932-1940
- NRC (1989): Nutrient Requirements of Dairy Cattle. National Academy of Science, Washington, DC
- NRC (2001): Nutrient Requirements of Dairy Cattle. National Academy of Science, Washington, DC
- O'Fallon, J. V. and B. P. Chew (1984): The subcellular distribution of beta-carotene in bovine corpus luteum. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 177, 406-411
- Oldham, E. R., R. J. Eberhart and L. D. Muller (1991): Effects of supplemental vitamin A or beta-carotene during the dry period and early lactation on udder health. J. Dairy Sci. 74, 3775-3781
- Olson, J. A. and Hayaishi O. (1965): The enzymatic cleavage of β -carotene into vitamin A by soluble enzymes of rat liver and intestine. Proc. Nat. Acad. Sci. 54, 1364-1370
- de Ondarza, M.B., Wilson, J.W. and Engstrom, M. (2009): Case study: Effect of supplemental beta-carotene on yield of milk and milk components and reproduction of dairy cows. Prof. Anim. Sci. 25: 510-516
- Özpinar, H., Cekgul, E., Eggenberger, E. and Senel, H. S. (1988): Zusammenhang zwischen Ovarialzysten und den Konzentrationen von β -Carotin, Vitamin E und Vitamin A im Serum von Milchkühen. Schweiz. Arch. Tierheilk. 130, 263-273
- Özpinar, H., Özpinar, A., Bilal, T., Türkalp, I. and Firat, A. (1995): Pharmacokinetics of intramuscular administered beta-carotene and its effects on reproduction in sheep. Wien. Tierärztl. Mschr. 82, 229-231
- Palmquist, D. L. (1976): A kinetic concept of lipid transport in ruminants - a review. J. Dairy Sci. 59, 355-363
- Patton, S., Kelly, J. J. and Keenan, T. W. (1980): Carotene in bovine milk fat globules: observations on origin and high content in tissue mitochondria. Lipids 15, 33-38
- Perkins, B. L. (1985): Production, reproduction, health and liver function following overconditioning in dairy cattle. Diss. Abstr. Int. B 46, 10
- Pethes, G., Horvath, E., Kulcsar, M., Huszenicza, G., Somorjai, G., Varga, B. and Haraszti, J. (1985a): In vitro progesterone production of corpus luteum cells of cows fed low and high levels of beta-carotene. Zbl. Vet. Med. A 32, 289-296

- Pethes, G., P. Rudas, G. Huszenicza and G. Somorjai (1985b): Conversion of thyroxine to triiodothyronine in liver biopsy samples of beta-carotene and vitamin-A supplemented dairy cows. *Zbl. Vet. Med. A* 32, 512-517
- Prince, R. M., and Frisoli, K. J. (1993): Beta-carotene accumulation in serum and skin. *Am. J. Clin. Nutr.* 57, 175-81
- Rakes, A. H., M. P. Owens, J. H. Britt and L. W. Whitlow (1985): Effects of adding beta-carotene to rations of lactating cows consuming different forages. *J. Dairy Sci.* 68, 1732-1737
- Ramadan, A. A., A. A. Ghoniem, H. M. Hassan, A. E. Youssef (2001): Effects of β -carotene, selenium and vitamin A on in vitro polymorphonuclear leukocytic activity in peripartal buffalo: (*Bubalus bubalus*). *Theriogenology*, 55, 693-704
- Rammel, C. G., B. Cunliffe and A. J. Kienoom (1983): Determination of alpha-tocopherol in biological specimens by HPLC. *J. Liquid Chromatogr.* 6, 1123-1130.
- Rapoport, R., D. Sklan, D. Wolfenson, A. Shaham-Albalancy and I. Hanukoglu (1998): Antioxidant capacity is correlated with steroidogenic status of the corpus luteum during the bovine estrous cycle. *Biochim. Biophys. Acta* 1380, 133-140
- Reksen, O. and E. Ropstad (2002): Influence of dietary energy and protein on reproductive performance in dairy cattle. *Norsk-Veterinaertidsskrift* 114, 21-25
- Roche, J.R., N.C. Friggens, J.K. Kay, M.W. Fisher, K.J. Stafford, D.P. Berry, (2009) Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. *J Dairy Sci.* 92, 5769-801.
- Rodgers, R. J., T. C. Lavranos, H. F. Rodgers, F. M. Young and C. A. Vella (1995): The physiology of the ovary: maturation of ovarian granulosa cells and a novel role for antioxidants in the corpus luteum. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 53, 241-246
- Ronning, M., E. R. Berousek, J. R. Griffiths and W. D. Gallop (1959): Carotene requirement of dairy cattle. *Oklahoma Agric. Exp. Tech. Bull. Oklahoma St. Univ., Stillwater* 76, 30
- Rosenberger, G. (1978): *Krankheiten des Rindes*. Verlag Paul Parey, Berlin
- Sales J.N.S., L.M.K. Dias, A.T.M. Viveiros, M.N. Pereira, J.C. Souza (2007): Embryo production and quality of Holstein heifers and cows supplemented with beta-carotene and tocopherol. *J. Anim Reprod Sci.* 106 ,1-2, 77-89
- Schams, D., B. Hoffmann, K. H. Lotthammer and L. Ahlswede (1977): Untersuchungen über eine spezifische, Vitamin-A-unabhängige Wirkung des

β -Carotins auf die Fertilität des Rindes. 4. Mitteilung: Auswirkungen auf hormonale Parameter während des Zyklus. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 84, 307-310

Schierle, J., Pietsch, B., Ceresa, A., Fizet, C. and Waysek H. E. (2004): Method for the Determination of β -Carotene in Supplements and Raw Materials by Reversed-Phase Liquid Chromatography: Single Laboratory Validation. Journal of AOAC International 87, 5, 1070-1082

Schweigert, F.J., Lutterbach, A., Rambck, W.A., Zucker H. (1986): Vitamin A and β -carotene concentrations in bovine follicular fluid in relationship to follicle size, J. Vet. Med. A 33, 360-364

Schweigert, F.J., Wierich, M. (1988a): Carotene cleavage activity in bovine ovarian follicles, Theriogenology 30, 923-930

Schweigert, F.J., Zucker, H. (1988b): Concentrations of vitamin A, beta-carotene and vitamin E in individual bovine follicles of different quality. J. Reprod. Fertil. 82(2), 575-579

Schweigert, F. J. (1995): Recent findings on the metabolism and function of beta-carotene and vitamin A. Krafftutter 6, 271-272

Schweigert F.J. (2003): Changes in the concentration of β -carotene, alpha-tocopherol and retinal in the bovine corpus luteum during the ovarian cycle. Archives of Animal Nutrition 57, 307-310

Shalgi, R., P. Kraicer, A. Rimon and M. Pinto (1973): Proteins of human follicular fluid: The blood-follicle barrier. Fertil. Steril. 24, 429-434

Sklan, D. (1983): Carotene Cleavage Activity in the corpus luteum of cattle. Int. J. Vitam. Nutr. Res. 53, 23-26

Smith, B. P. (1996): Vitamin A Deficiency. In: B. P. Smith (Hrsg.): Large animal internal medicine: diseases of horses, cattle, sheep and goats. 2. Aufl., Mosby, St. Louis, 1064-1067

Sprosen, J. M. and N.R. Towers (1995): Urinary zearalenone metabolite concentrations in herds with fertility problems. In: "Toxinology and Food Safety". Toxinology and Food Safety Research Group, Ruakura Research Centre, Hamilton, New Zealand, 45-46

Stacewicz-Sapuncakis, M., H. H. Chang Wang and A. M. Gawienowski (1975): Biosynthesis of retinol in bovine corpus luteum tissue. Biochim. Biophys. Acta 380, 264-269

Staples, C. R., W. W. Thatcher and J. H. Clark (1990): Relationship between ovarian activity and energy status during the early post partum period of high producing dairy cows. J. Dairy Sci. 73, 938-947

- Stiewe, H. (1984): Fruchtbarkeit kann gefüttert werden. *Tierzüchter* 36, 17-19
- Stolla, R., R. Porzig and W. Leidl (1987): Effects of feeding beta-carotene on the fertility of cattle. 2. Effects on fertility. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 100, 90-95
- Stott, A. W. and M. A. DeLorenzo (1988): Factors affecting profitability of Jersey and Holstein lactations. *J. Dairy Sci.* 71, 275-283
- Surynek, J., Kucera, A., Brandejs, P. (1976): The level of beta-carotene and vitamin A in the blood of nursing calves and their mothers, *Vet Med* 21(9),557-563
- Suzuki C., Kato N. (1990): A simple and cheap method for measuring serum vitamin A in cattle using a spectrophotometer. *Jpn J Vet Sci.* 52, 1282-1284
- Swanson, L. V. (1989): Discussion: Interactions of nutrition and reproduction. *J. Dairy Sci.* 72, 805-814
- Talavera, F. and B. P. Chew (1988): Comparative role of retinol, retinoic acid and beta-carotene on progesterone secretion by pig corpus luteum in vitro. *J. Reprod. Fertil.* 82, 611-615
- Tekpetey, F. R., W. M. Palmer and J. R. Ingalls (1987a): Reproductive performance of prepubertal dairy heifers on low or high β -carotene diets. *Can. J. Anim. Sci.* 67, 477-489
- Tekpetey, F. R., W. M. Palmer and J. R. Ingalls (1987b): Seasonal variation in serum β -carotene and vitamin A and their association with postpartum reproductive performance of holstein cows. *Can. J. Anim. Sci.* 67, 491-500
- Thyagaraju, B.M., B. Shrilatha, and D.Muralidhara (2008): Oral supplementation of β -Carotene significantly ameliorates testicular oxidative stress in the streptozotocin-diabetic rat. *Int. J. Fer. Ster.* 2, 74-81
- Tjoelker, L. W., B. P. Chew, T. S. Tanaka and L. R. Daniel (1988): Bovine vitamin A and beta-carotene intake and lactational status. 2. Responsiveness of mitogen-stimulated peripheral blood lymphocytes to vitamin A and beta-carotene challenge in vitro. *J. Dairy Sci.* 71, 3120-3127
- Tjoelker, L. W., B. P. Chew, T. S. Tanaka and L. R. Daniel (1990): Effect of dietary vitamin A and beta-carotene on polymorphonuclear leukocyte and lymphocyte function in dairy cows during the early dry period. *J. Dairy Sci.* 73, 1017-1022
- Ullrey, D. E. (1972): Biological availability of fat-soluble vitamins: vitamin A and carotene. *J. Anim. Sci.* 35, 648-657
- Towers, N.R., J.M. Sprosen, and W. Webber. (1995a): Zearalenone metabolites in cycling and non-cycling cows. In: "Toxicology and Food

- Safety". Toxinology and Food Safety Research Group, Ruakura Research Centre, Hamilton, New Zealand, 46-47
- Towers, N.R., C. Wesselink, E.A. Fowke, and J.M. Sprosen. (1995b): Plasma vs. urinary zearalenone concentrations as indicators of zearalenone intake. In: "Toxinology and Food Safety". Toxinology and Food Safety Research Group, Ruakura Research Centre, Hamilton, New Zealand, 40-41
- van Het Hof, H. K., West, E. C., Weststrate, A. J., Hautvast G.A.J.J. (2000): Dietary Factors That Affect the Bioavailability of Carotenoids. *Journal of Nutrition*. 130, 503-506
- Wang, J. Y., L. L. Larson and F. G. Owen (1982): Effect of beta-carotene supplementation on reproductive performance of dairy heifers. *Theriogenology* 18, 461-473
- Wang, J. Y., C. B. Hafi, F. G. Owen and L. L. Larson (1987): Effect of beta-carotene supplementation on periparturient health and reproduction of Holstein cows. *Anim. Reprod. Sci.* 15, 1-2
- Wang, J. Y., C. B. Hafi and L. L. Larson (1988): Effect of supplemental beta-carotene on luteinizing hormone released in response to gonadotropin-releasing hormone challenge in ovariectomized Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 71, 498-504
- Wardi J., R. Reifen, H. Aeed, L. Zadel, Y. Avni, R. Bruck (2001): Beta-carotene attenuates experimentally induced liver cirrhosis in rats. *Isr. Med. Assoc. J.* 3,2, 151-154
- Warner, R. L., G. E. Mitchell, C. O. Little and N. E. Alderson (1970): Preintestinal disappearance of vitamin A in steers fed different levels of corn. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 40, 585-588
- Weaver, G. A., H. J. Kurtz, J. C. Behrens, T. S. Robinson, B. E. Seguin, F. Y. Bates and C. J. Mirocha (1986): Effect of zearalenone on the fertility of virgin dairy heifers. *Am. J. Vet. Res.* 47, 1395-1397
- Weigelt, B., R. Weigelt, T. Barth, S. Bach, K. Eulenberger and J. Schulz (1988): Studies into embryonic mortality in a dairy herd. *Mh. Vet. Med.* 43, 157-160
- Weiss, W. P., J. S. Hogan, K. L. Smith and S. N. Williams (1994): Effect of dietary fat and vitamin E on alpha-tocopherol and beta-carotene in blood of peripartum cows. *J. Dairy Sci.* 77, 1422-1429
- Weiss, W. P. (1998): Requirements of fat-soluble vitamins for dairy cows: A review. *J. Dairy Sci.* 81, 2493-2501
- Whitaker, D. A. (1999): Trace elements - the real role in dairy cow fertility? *Cattle Practice* 7, 239-241

- Whitlow L.W., W.M. Hagler (2005): Mycotoxins in dairy cattle: occurrence, toxicity, prevention and treatment” in Proceeding of Southwest Nutritional Conference, 124-138
- Woggon, W. D. (2002): Oxidative cleavage of carotenoids catalyzed by enzyme models and beta-carotene 15,15'-monooxygenase. Pure Appl. Chem. 74, 1397-1408
- Yeum, K. J., Russell, R. M. (2002): Carotenoid bioavailability and bioconversion. Annu Rev Nutr. 22, 483-504
- Yildiz, H., Kaugusuzoğlu, E. and Kizil, Ö.(2005): Serum Progesterone, Vitamin A, E, C and β -Carotene Levels in Pregnant and Nonpregnant Cows Post-Mating. Journal of Animal and Veterinary Advances 4 (3): 381-384
- Young, F. M., W. B. Luderer and R. J. Rodgers (1995): The antioxidant beta-carotene prevents covalent cross-linking between cholesterol side-chain cleavage cytochrome P450 and its electron donor, adrenodoxin, in bovine luteal cells. Mol. Cell. Endocrinol. 109, 113-118
- Zerobin, K. (1987): Physiologie der Fortpflanzung. In: Lehrbuch der Veterinärphysiologie. (Eds. A. Scheunert and A. Trautmann): Verlag Paul Parey, Berlin, 215-221
- Ziegler, R. G. (1989): A review of epidemiologic evidence that carotinoids reduce the risk of cancer. J. Nutr. 119, 116-122
- Zucker, H., O. Kreuzberg, W. Hollwich, D. Matzke, J. Kogel and G. Burgstaller (1980): Supply of dairy cows with beta-carotene and vitamin A. II. Effect on concentration in milk and clinico-gynaecological and hormone analytical findings. Zbl. Vet. Med. A 7, 525-533

БИОГРАФИЈА

Мр Сњежана Тројачанец је дипломирала на Ветеринарском факултету, Свеучилишта у Загребу 1989. године, са просечном оценом 8,87.

Магистарске студије на Медицинском факултету Универзитета „Св. Кирил и Методиј“, Скопље, Република Македонија, уписала је 1996. године и завршила 2000. године са просечном оценом 10,00.

2000. године одбранла је магистарску тезу „In vitro матурација јајних ћелија и способност за одговор на индукцију партеногенетске активације“ из области медицинских наука -физиологија.

Запослена је на Факултету пољопривредних наука и хране у Скопљу, Р. Македонија, у звању асистента.

До сада је аутор и коаутор више од тридесет научних радова и саопштења из области ветеринарске медицине – заштита здравља преживара. Своје радове је излагала на међународним и националним скуповима са међународним учешћем и на скуповима националног значаја.

Члан је Македонске ветеринарске коморе и Македонско-хрватског академског друштва.