

Döl Tutmayan ve Anöstruslu Süt İneklerinde Vitamin A, E, Beta-Karoten, Kolesterol ve Trigliserid Düzeylerinin Araştırılması

Ahmet CEYLAN* İlker SERİN* Hasan AKŞİT** Kamil SEYREK** Cengiz GÖKBULUT***

* Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fak. Doğum ve Reprodüksiyon Hast. Anabilim Dalı, Aydın - TÜRKİYE

** Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Aydın – TÜRKİYE

*** Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Aydın – TÜRKİYE

Yayın Kodu: 2007/23-A

Özet

Vitamin A, E ve β -karoten süt ineklerinde normal reproduktif faaliyetlerin yürütülmesi için oldukça önemlidir. Bu çalışmanın amacı, döl tutmayan ve anöstruslu ineklerde vitamin A, E ve beta-karoten ile kolesterol ve trigliserid gibi bazı biyokimyasal parametrelerin serum düzeylerini tespit etmek ve reproduktif problemlerin ortaya çıkmasındaki olası rollerini araştırmaktır. Çalışma, yaşları 3–8 arasında değişen, toplam 64 baş Holstein ırkı inek üzerinde Mart-Kasım aylarında gerçekleştirildi. Deneme grubunu 44 adet reproduktif problemlili inek, kontrol grubunu ise 20 adet sağlıklı inek oluşturdu. Deneme grubunda kendi içinde döl tutmayan (n=26) ve anöstrus grubu (n=18) olarak ikiye ayrıldı. İneklerin kan serum vitamin A, beta-karoten, kolesterol ve trigliserid düzeyleri spektrofotometrik yöntemle ölçüldü. Serum vitamin E düzeyi ise yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanılarak analiz edildi. Döl tutmayan ve anöstruslu grupların vitamin E düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük bulundu ($P<0.05$). Reproduktif problemlili ineklerin kan serum vitamin A, beta-karoten düzeyleri kontrol grubu ineklerin değerlerine göre düşük olmakla beraber, istatistiksel açıdan önemi bulunamadı. Bunun yanında döl tutmayan ineklerin trigliserid düzeyi ise kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu ($P<0.05$). Grupların kolesterol düzeyleri arasındaki farklılıklar arasında ise istatistiksel bir önem bulunamadı. Sonuç olarak vitamin E, A ve beta-karotenin düşük düzeylerde olmasının döl tutmama ve anöstrus gibi çeşitli reproduktif problemlerin ortaya çıkmasında etkili olabileceği kanısına varılmıştır.

Anahtar sözcükler: Vitamin A, E, Beta-karoten, Döl tutmama, Anöstrus, Kolesterol, Trigliserid, İnek

Investigation of Vitamins A, E, beta-carotene, cholesterol and triglyceride concentrations in dairy cows with repeat breeder and anestrus

Summary

Vitamins A, E and beta-carotene are essential to maintaining normal reproduction in dairy cattle. The objective of this study were to determined serum concentrations of vitamins A, E, and beta-carotene as well as some biochemical parameters as kolesterol and trigliseride in dairy cows with repeat breeder and anestrus and their role on the etiology of these reproductive problems were investigated. The Study has been carried out between the months of March and November and total 64 Holstein cows. Fourty-four cows with reproductive problems and twenty controls were used in the study. Cows with reproductive problems were divided into two groups as repeat breeder (n=26) and anestrus group (n=18). Vitamin A, beta-carotene, cholesterol and triglyceride concentrations were determined by spectrophotometrically. Vitamin E level in serum were analysed using validated a method with high performance liquid chromatography (HPLC). Vitamin E levels in the repeat breeder and anestrus groups were significantly lower than that in the control group ($P<0.05$). Although the serum levels of vitamins A and beta-carotene were lower in the cows with repeat breeder and anestrus than in the control group cows, the difference was not statistically significant. The triglyceride concentration in cows with repeat breeder was significantly higher ($P<0.05$) than those in the control group. It was also noted that the level of cholesterol was no statistical difference between these three groups. In conclusion, the low concentrations of vitamins E, A and beta-carotene analyzed may have some effects on reproductive problems as repeat breeder and anestrus.

Keywords: Vitamin A, E, Beta-caroten, Repeat breeder, Anestrus, Cholesterol, Triglyceride, Cow

İletişim (Correspondence)

Phone: +90 256 2470700

e-mail: hmtceylan@hotmail.com

GİRİŞ

Modern ve ekonomik süt inekçiliği işletmelerinde amaç yılda bir buzağı ve maksimum süt verimi elde etmektir. Bunun için bir ineğin doğumdan sonra yaklaşık üç ay içerisinde tekrar gebe kalması gerekir. Fakat günümüzde süt inekçiliği yapan birçok işletmede, postpartum dönemde ortaya çıkan döl tutmama ve anöstrus gibi üreme sorunları iki doğum aralığının uzamasına neden olmaktadır ¹⁻³. Bunun sonucunda tekrarlayan tohumlamalar, veteriner hekim ve tedavi masraflarının artması, uzayan laktasyona bağlı olarak süt geliri/yem giderleri oranında ortaya çıkan düşme ve en önemlisi de gebe kalmayan hayvanların sürüden çıkarılması büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır ^{1,4,5}.

Döl tutmama sorununun nedenleri arasında, fertilizasyon şekillenmemesi, erken embryonik ölümler, hormonal bozukluk, ovulasyonun geç şekillenmesi, tohumlama tekniğinin yanlış ve spermanın kalitesiz olması, yetersiz beslenme, enfeksiyöz etkenler, çevresel (çevre ısısının ve nem oranının yüksek olması, kötü barındırma koşulları) ve genetik (kalıtım, kan yakınlığı) gibi birçok faktör sayılabilir ⁶. Postpartum anöstrus sorunu östrusların belirlenememesi, progesteron düzeyinin düşük olması, yüksek süt verimi, yemle alınan enerjinin düşük olması, mevsimsel etkiler, barınma koşullarının kötü olması gibi çeşitli faktörlerin etkisi altında etiyolojik olarak dört ayrı şekilde ortaya çıkabilir ^{6,7}. Bunlar inaktif ovaryum (hakiki anöstrus), suböstrus (sakin kızgınlık veya kızgınlığın belirlenememesi), ovaryum kistleri (luteal kistler), pyometra veya teşhis edilemeyen erken gebelikler olarak sayılabilir ^{8,9}. Ayrıca, vitamin yetersizliklerinin de bu reproduktif sorunların ortaya çıkmasında rol oynadığı veya predispozisyon hazırladığı bildirilmektedir ¹⁰⁻¹².

Vitamin A ve beta-karotenin fertilite üzeri etkili olduğu ve bunların eksikliği durumlarında östrus siklusunda düzensizlikler, embriyonik ölümler, sakın kızgınlık, ovulasyon gecikmesi ve endometritis gibi üreme problemlerinin ortaya çıkma riskinin arttığı ifade edilmektedir ¹¹⁻¹⁷. Ayrıca dışarıdan beta-karoten ve vitamin E alan ineklerde gebelik için gerekli tohumlama sayısının az olduğu bildirilmektedir ¹³.

Döl tutmama ve anöstrus gibi reproduktif

problemler süt sığırcılığı ve ülkemiz hayvancılığında büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bunun için işletmelerde bu sorunların ortaya çıkmasını beklemeden korunma yöntemlerinin uygulanması gerekir. Bu sayede ortaya çıkabilecek olası birçok fertilite sorunu önlenabilir. Bu çalışma ile döl tutmama ve anöstrus problemi bulan hayvanlarda serum vitamin A, E, beta-karoten, kolesterol ve trigliserid düzeylerinin araştırılması ve onların bu reproduktif problemlerin ortaya çıkmasındaki rollerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Araştırmanın materyalini Aydın bölgesinde faaliyet gösteren iki süt sığırcılığı işletmesindeki, 44 reproduktif problemi ve 20 baş kontrol grubu toplam 64 baş Holstein ırkı inek oluşturdu. Yaşları 3-8 arasında değişen hayvanlar, yarı açık serbest duraklı ahırlarda barındırılmıştır. İşletmelerde, günde iki sağım programı uygulanmış olup, rasyon olarak konsantre yem ve mısır silajına ağırlık verilmiştir. Her bir inek için günlük ortalama 9-10 kg konsantre yem ve 18-20 kg mısır silajı olacak şekilde rasyon düzenlenmiştir. Ayrıca buna ilave olarak sonbahar aylarında az miktarda kurutulmuş yonca veya ot rasyona ilave edilmiştir. Araştırma Mart-Kasım ayları arasında gerçekleştirilmiş olup, sürü kayıtları ve hayvanlara ait anamnez bilgileri çiftlik veteriner hekimleri tarafından tutulmuştur. Doğum sonrası en az üç ay geçmesine rağmen östrus gözlenmeyen inekler anöstrus grubunu (n=18) ve yine doğum sonrası seksüel siklusları normal olarak şekillenen ancak en az üç veya daha fazla sayıda tohumlandığı halde gebe kalmayan inekler de döl tutmayan (repeat breeder) grubunu (n=26) oluşturdu. Kontrol grubunu ise yine aynı postpartum dönemler arasında bulunan ve düzenli siklus gösterip bir ya da iki tohumlamada gebe kalan inekler oluşturdu.

Vena jugularis'ten alınan kan örnekleri 2 saat süre ile oda sıcaklığında tutulduktan sonra, 5000 devirde 10 dakika süre ile santrifüj edilerek serumlar elde edildi. Serumlar analizler yapılmaya kadar -20°C'de derin dondurucuda muhafaza edildi. İneklerden alınan kan serumu örneklerinde vitamin A ve beta-karoten düzeyleri spektrofotometrik yöntemle tespit edildi. Kolesterol ve trigliserid düzeyleri Spinreact (Santa Coloma, Spain) kiti ile Shimatzu UV 1601 spektrofotometre

metresinde ölçüldü. Serum vitamin E seviyesi ise yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanılarak analiz edildi.

Gruplar arasındaki farkın kontrolü SSPS istatistik programı kapsamında varyans analizi ve Duncan testi ile yapılmıştır. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir.

BULGULAR

Bu çalışmada, reproduktif problemlili ve kontrol grubu ineklere ait ortalama serum vitamin A, E, beta-karoten, kolesterol ve trigliserid düzeyleri de *Tablo 1*'de sunulmuştur. *Tablo 1*'de görüldüğü gibi, döl tutmayan ve anöstruslu ineklerin serum vitamin E seviyesinin düzenli döl verimine sahip ineklere (kontrol grubu) göre daha düşük ($P<0.05$) olduğu tespit edildi. Bunun yanında vitamin A ve beta-karoten seviyeleri de reproduktif problemlili ineklerde düşük olmasına rağmen, aralarındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı ($P>0.05$) belirlendi. Yine trigliserid seviyesinin ise döl tutmayan ineklerde kontrol grubuna göre daha yüksek ($P<0.05$) olduğu tespit edilirken; kolesterol düzeyinin her üç grup arasında önemli bir farklılığın olmadığı gözlemlendi.

Tablo 1. Reproduktif problemlili ve kontrol grubu ineklerde ortalama serum vitamin A, E, beta-karoten, kolesterol ve trigliserid düzeyleri

Table 1. Mean serum levels vitamins A, E and beta-carotene, cholesterol and trigliseride levels in cows having reproductive problems and control group

Parametre	Döl tutmayan (n=26)	Anöstrus (n=18)	Kontrol (n=20)
Vitamin A ($\mu\text{g/dL}$)	40.86 \pm 4.29	43.67 \pm 3.45	49.07 \pm 4.73
Vitamin E ($\mu\text{g/dL}$)	2.46 \pm 0.16*	2.32 \pm 0.14*	2.86 \pm 0.14
Beta-karoten ($\mu\text{g/dL}$)	111.18 \pm 11.17	115.18 \pm 13.57	128.55 \pm 7.64
Kolesterol (mg/dL)	151.86 \pm 6.86	146.70 \pm 8.85	149.74 \pm 6.43
Trigliserid (mg/dL)	9.88 \pm 1.06*	8.17 \pm 1.07	8.11 \pm 0.59

* $P<0.05$

TARTIŞMA ve SONUÇ

Yapılan çalışmalarda A vitamininin ön maddesi olarak bilinen beta-karotenin ineklerin fertilitesi

üzerine olumlu etkisi olduğu bildirilmektedir¹³⁻¹⁶. Özellikle steroid hormon üreten korpus luteumun beta-karoten bakımından zengin olduğu ve bu yüzden beta-karotenin vitamin A ile birlikte luteal hücrelerin işlevlerinde önemli bir role sahip olduğu belirtilmektedir¹⁷⁻¹⁹. Ayrıca korpus luteumun progesteron salgılaya kapasitesinin ovaryumların yüksek miktarda beta-karoten içermesiyle yakın ilişkisi olduğu bildirilmektedir^{17,18}. Bu yüzden beta-karoten, süt ineklerinde luteal hücrelerden progesteron salınımında rol oynamakta, bunun sonucu yetersiz progesteron sentezine bağlı olarak olası şekillenebilecek zigotun uterusu implante olmama ve erken embriyonik ölüm riskini azaltmaktadır²⁰. Ayrıca follikül içerisinde yeterli düzeyde bulunan beta-karotenin oosit üzerine antioksidan olarak etki ettiği ve serbest oksijen radikallerine karşı koruyucu bir rol oynadığı vurgulanmaktadır²¹. İneklerde serum beta-karoten eksikliği olgularında, ovaryum kistleri, sakın kızgınlık, ovulasyonda gecikme ve erken embriyonik ölüm olayları, postpartum uterus involusyonunda ve ovaryum fonksiyonlarının başlamasında gecikme, gebe kalma oranında düşme ve gebelik başına düşen tohumlama sayısında artış olabileceği bildirilmektedir^{22,23}. Yine başka bir çalışmada, serum beta-karoten düzeyi düşük ineklerin reproduktif performansının yüksek olanlardan daha düşük olduğu ifade edilmektedir¹⁴. Bunu yanında diğer bazı araştırmacılar tarafından ineklerde beta-karotenin fertilitte üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı ifade edilmektedir^{24,25}.

Sunulan çalışma sonucunda döl tutmama ve anöstrus problemi olan ineklerin serumlarında, vitamin A ve beta-karoten düzeylerinin, düzenli döl verimine sahip ineklere (kontrol grubu) göre daha düşük olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte gruplar arasında istatistiki yönden bir fark bulunmamıştır. Vitamin A ineklerde epitel hücrelerin bütünlüğünün korunması ve normal reproduktif faaliyetlerin devamlılığı için oldukça önemlidir^{12,26}. Eksikliğinde postpartum endometriyum rejenerasyonunun olumsuz etkileneceği ve bunun sonucunda endometritis, düzensiz östrus, sub-östrus, ovulasyon gecikmesi, gebe kalma oranında düşme ve ovaryum kisti gibi çeşitli infertilite problemi şekillenebileceği belirtilmektedir^{12,22}.

Sunulan araştırmada serum vitamin E düzeyi reproduktif problemlili hayvanlarda düzenli döl

verimine sahip ineklere kıyasla daha düşük bulunmuş ve bunun istatistiksel olarak önemli olduğu gözlenmiştir. Biyolojik bir antioksidan olan E vitamini, antioksidan özelliğinden dolayı hücre içi ve hücreler arası zarların oksidasyonunu önleyerek dokuların yapılarını korur ve işlevlerini yerine getirmesini sağlar ²⁷. Özellikle ovaryumlardaki steroid üreten doku ve implante olmamış embriyonun serbest oksijen radikallerine karşı oldukça duyarlı olması nedeniyle serbest radikallerin infertiliteye neden olabileceği ifade edilmektedir ^{28,29}.

İneklerde kolesterol, trigliserid seviyelerinin, gebelik ve laktasyon gibi çeşitli fizyolojik durumlara bağlı olarak değişebileceği ve düşük düzeylerinin üreme performansını etkileyebileceği belirtilmektedir ³⁰. Bu çalışmada, tespit edilen kolesterol düzeyleri bakımından reproduktif problemli ve düzenli döl verimine sahip inekler arasında önemli bir farklılık olmadığı saptandı. Fertil ve döl tutmayan inekler üzerinde gerçekleştirilen başka bir çalışmada da benzer bulgular bulunduğu ifade edilmektedir ³¹. Buna karşın başka bir çalışmada, kolesterol düzeyini fertilitate parametrelerinin düşük olduğu ineklerde fertilitesi yüksek ineklere kıyasla daha düşük olduğu tespit edilmiştir ³². Ayrıca postpartum ovaryum aktivitesinin başlamasında kolesterol ile progesteron arasında pozitif bir ilişki olduğu bildirilmiştir. Salmanoğlu ve ark.²² suböstrus ve düzensiz siklus gösteren ineklerde kolesterol düzeyinin sağlıklı ineklerden belirgin derecede daha düşük olduğunu saptamışlardır. Özellikle kolesterolün progesteron yapımında anahtar madde olması nedeniyle suböstrus ve düzensiz siklus gösteren ineklerde etkili olabileceği vurgulanmıştır. Bunun yanında döl tutmayan ineklerin serumlarında, trigliserid seviyesi, kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu. Guedon ve ark.³⁰ serum trigliserid düzeyinin postpartum ovaryum siklusunun tekrar başlaması ile ilişkisi olmadığını bildirmiştir. Yine daha önce yapılan başka bir çalışmada ³³ follikül sıvısındaki trigliserid yoğunluğunun oldukça düşük olduğu ve trigliseridlerin ovaryumlarda steroid hormon üretiminde direkt olarak düzenleyici bir rol oynamadığı belirtilmektedir. Buna karşın, Wehrman ve ark.³⁴ tarafından trigliserid düzeyindeki farklılıkların laktasyon, beslenme ve fizyolojik durumdan kaynaklanabileceği ifade edilmekte ve ovaryumlar için spesifik bir rol oynayabileceği bildirilmektedir.

Sonuç olarak bu araştırmada, döl tutmayan ve anöstruslu ineklerde düzenli döl verimine sahip hayvanlara kıyasla vitamin E düzeyleri daha düşük bulunması bu vitaminin normal reproduktif faaliyetlerin sürdürülmesinde genel olarak önemli düzeyde etkiye sahip olabileceği kanısına varıldı. Bunun yanında vitamin A ve beta-karoten düzeylerinin döl tutmayan ve anöstrus problemi bulunan hayvanlarda düşük bulunması ve her iki sorununda etiolojisinin çok kapsamlı olması nedeniyle vitamin A ve beta-karotenin düşük seviyelerinin bu tür problemlerin ortaya çıkmasına neden olabileceği göz ardı edilmemelidir.

KAYNAKLAR

1. **Bartlett PC, Kirk JH, Mather E:** Repeated insemination in Michigan Holtsein Fresian cattle: Incidence, descriptive epidemiology and estimated economic impact. *Theriogenology*, 26, 309-322, 1986.
2. **Etherington WG, Christie KA, Walton JS, Leslie KE, Wickstrom S, Johnson WH:** Progesterone profiles in postpartum Holstein dairy cows as an aid in the study of retained fetal membranes, pyometra and anestrus. *Theriogenology*, 35, 731-746, 1991.
3. **Moss N, Lean IJ, Reid SWJ, Hodgson DR:** Risk factors for repeat-breeder syndrome in New South Wales dairy cows. *Prev Vet Med*, 54, 91-103, 2002.
4. **Ferry J:** Clinical Management of Anestrus. **In**, Youngquist RS (Ed): Current Therapy in Large Animal Theriogenology. W.B. Saunders Co, Philadelphia, 285-289, 1997.
5. **Lafi SQ, Kaneene JB, Black JR, Lloyd JW:** Epidemiological and economic study of the repeat breeder syndrome in Michigan dairy cattle. II Economic modeling. *Prev Vet Med*, 14, 99-114, 1992.
6. **Alaçam E:** Büyük Ruminantlarda İnfertilite. **In**, Alaçam E (Ed): Evcil Hayvanlarda Reproduksiyon, Suni tohumlama, Doğum ve İnfertilite. pp. 265-289, Konya, 1994.
7. **Butler WR, Smith RD:** Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *J Dairy Sci*, 72, 767-783, 1989.
8. **Zdunczyk S, Mwaanga ES, Malecki-Tepisht Jacek Baranski W, Janowski T:** Plasma progesterone levels and clinical findings in dairy cows with post-partum anoestrus. *Bull Vet Inst Pulawy*, 46, 79-86, 2002.
9. **Ceylan A:** Süt ineklerinde postpartum anöstrüs sorunu. *Bültendif*, 20, 2-6, 2003.
10. **Campbell MH, Miller JK:** Effect of supplemental dietary vitamin E and zinc on reproductive performance of dairy cows and heifers fed excess iron. *J Dairy Sci*, 81, 2693-2699, 1998.
11. **Hemken RW, Bremel DH:** Possible role of beta-carotene in improving fertility in dairy cattle. *J Dairy Sci*, 65, 1069-1073, 1982.
12. **Hurley WL, Doane RM:** Recent developments in the roles of vitamins and minerals in reproduction. *J Dairy Sci*, 72, 784-804, 1989.
13. **Arechiga CF, Vazquez-Flores S, Ortiz O,**

- Hernandez-Ceron J, Porras A, McDowell LR, Hansen PJ:** Effect of injection of β -carotene or vitamin E and selenium on fertility of lactating dairy cows. *Theriogenology*, 50, 65-76, 1998.
14. **Gossen N, Feldmann M, Hoedemaker M:** Effect of parenteral supplementation with beta-carotene in the form of an injection solution (Caeofertin) on the fertility performance of dairy cows. *Tierarztl Wochenschr*, 111, 14-21, 2004.
15. **LeBlanc SJ, Herdt TH, Seymour WM, Duffield TF, Leslie KE:** Peripartum serum vitamin E, retinol, and beta-carotene in dairy cattle and their associations with disease. *J Dairy Sci*, 87, 609-619, 2004.
16. **Weiss WP:** Requirements of fat-soluble vitamins for dairy cows: A Review. *J Dairy Sci*, 81, 2493-2501, 1998.
17. **Graves-Hoagland RL, Hoagland TA, Woody CO:** Relationship of plasma β -carotene and vitamin A to postpartum cattle. *J Dairy Sci*, 72, 1854-1858, 1989.
18. **Rapaport R, Sklan D, Wolfenson D, Shaham-Albalancy A, Hanukoglu I:** Antioxidant capacity is correlated with steroidogenic status of the corpus luteum during the bovine estrous cycle. *Biochim Biophys Acta*, 1380, 133-140, 1998.
19. **Arıkan Ş, Rodway RG:** Seasonal variation in bovine luteal concentrations of β -carotene. *Türk J Vet Anim Sci*, 25, 165-168, 2001.
20. **Jackson PS, Furr BJA, Johnson CT:** Endocrine and ovarian changes in dairy cattle fed a low beta-carotene diet during an estrus synchronization regime. *Res Vet Sci*, 31, 377-383, 1981.
21. **Ikeda S, Kitagawa M, Hiroshi Imai H, Yamada M:** The roles of vitamin A for cytoplasmic maturation of bovine oocytes. *J Reprod Develop*, 51 (1): 23-35, 2005.
22. **Salmanoğlu R, Baştan A, Salmanoğlu B, Küplülü Ş, Vural R:** Çeşitli fertilité problemlí Holstein Irkı ineklerde kan beta-karoten, retinol, glikoz ve kolesterol düzeyleri. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 44, 151-157 1997.
23. **Özpınar H, Özpınar A, İleri K, Kahraman R, Akın G:** Influence of different feeding during the dry period on some blood parameters and reproductive performance of dairy cattle. *Wien Tierarztl Monatschr*, 81, 1-5, 1994.
24. **Akondor FY, Stone JB, Walton JS, Leslie KE, Buchanan-Smith SG:** Reproductive performance of lactating Holstein cows fed supplemental β -carotene. *J Dairy Sci*, 69, 2173-2178, 1986.
25. **Folman Y, Ascarelli I, Kraus D, Barash H:** Adverse effect of β -carotene in diet on fertility of dairy cows. *J Dairy Sci*, 70, 357-365, 1987.
26. **Graves-Hoagland RL, Hoagland TA, Woody CO:** Effect of β -carotene and vitamin A on progesterone production by bovine luteal cells. *J Dairy Sci*, 71, 1058-1062, 1988.
27. **Hogan, JS, Weiss WP, Smith KL:** Role of vitamin E and selenium in host defence against mastitis. *J Dairy Sci*, 76, 2795-2803, 1993.
28. **Carlson JC, Wu XM, Sawada M:** Oxygen radicals and the control of ovarian corpus luteum function. *Free Rad Biol Med*, 14, 79-84, 1993.
29. **Fujitani Y, Kasai K, Ohtani S, Nishimura K, Yamada M, Utsumi K:** Effect of oxygen concentration and free radicals on in vitro development of in vitro-produced bovine embryos. *J Anim Sci*, 75, 483-489, 1997.
30. **Guedon L, Saumande J, Dupron F, Couquent C, Desbals B:** Serum cholesterol and triglycerides in postpartum beef cows and their relationship to the resumption of ovulation. *Theriogenology*, 51, 1405-1415, 1999.
31. **Çetin M, Doğan İ, Polat Ü, Yalçın A, Türkyılmaz Ö:** Blood biochemical parameters in fertile and repeat breeder cows. *Indian J Anim Sci*, 72 (10): 865-866, 2002.
32. **Kappel LC, Ingraham RH, Morgan EB, Zeringue L, Wilson D, Babcock DK:** Relationship between fertility and blood glucose and cholesterol concentrations in Holstein cows. *Am J Vet Res*, 45, 2607-2612, 1990.
33. **Williams GL:** Modulation of luteal activity in postpartum beef cows through changes in dietary lipid. *J Anim Sci*, 67, 785-793, 1989.
34. **Wehrman ME, Welsh TH, Williams GL:** Diet-induced hyperlipidemia in cattle modifies the intrafollicular cholesterol environment, modulates ovarian follicular dynamics, and hastens the onset of postpartum luteal activity. *Biol Reprod*, 45, 541-552, 1991.