

# ÇEŞİTLİ FERTİLİTE PROBLEMLİ HOLŞTAYN IRKI İNEKLERDE KAN BETA-KAROTİN, RETİNOL, GLİKOZ VE KOLESTEROL DÜZEYLERİ

Rıfat SALMANOĞLU<sup>1</sup>

Ayhan BAŞTAN<sup>2</sup>

Berrin SALMANOĞLU<sup>3</sup>

Şükrü KÜPLÜLÜ<sup>1</sup>

Rıfat VURAL<sup>1</sup>

**The research of blood beta-carotene, retinol, glucose and cholesterol concentrations in Holstein cows with various fertility problems.**

**Summary:** The aim of this study was to research the relationship between blood levels of beta-carotene, glucose, cholesterol, retinol and fertility in cows of postpartum 40-90 days which are of various fertility problems.

This study has been carried out between the months of September and March and total 50 Holstein cows divided into two groups. Group 1 consisted of 40 cows which have fertility problems and were between 3-8 of ages. The control group consisted of 10 normal cows. The cows in Group 1 were between postpartum 40 and 90 days and as a result of rectal and vaginal examination, they were found to have metritis (n=15), irregular cycles (n=10) and to be in subestrus (n=15). As for the control group, it consisted of normal postpartum cows showing regular cycle.

The levels of cholesterol and glucose were determined by using Reflectron (Bohringer, Mannheim) and by kits of the same firm. As to the levels of retinol and beta-carotene they were determined by UV- Spectro-photometric method .

In statistical analysis, t-test method was used.

The mean cholesterol, glucose, beta-carotene and retinol levels in Group 1 cows with metritis, or showing subestrus and irregular cycles were found as 190.96±24.37%mg, 66.21±6.26%mg, 103.07±27.76%µg, 36.35±12.72%µg, 170.14±14.23%mg, 36.11±4.13%mg, 53.07±17.26%µg, 46.35±12.72%µg, 180.16±14.73 %mg, 41.21±5.16%mg, 63.17±17.66%µg, 48.35±10.22%µg respectively. In control group, the mean cholesterol, glucose, beta-caroten and retinol concentrations were respectively 239.55±28.76%mg, 67.0±6.27%mg, 125.45±22.99 %µg, 48.07±5.97%µg.

The cows showing irregular cycles or subestrus were found to have lower levels of beta-carotene and glucose compared with metritis or normal ones (P<0.001). However, the retinol concentration were found to be lower in cows with metritis than in the other cows. There was no

<sup>1</sup> Doç. Dr., A.Ü., Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji A.B.D., Ankara.

<sup>2</sup> Araş. Gör. Dr., A.Ü. Vteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji A.B.D., Ankara.

<sup>3</sup> Doç. Dr., A.Ü., Veteriner Fakültesi, Biyokimya A.B.D., Ankara

significant difference between the retinol levels of the other cows ( $P>0.001$ ). There was no significant difference between the cholesterol levels of the Group 1. However, the cholesterol concentration found to be lower with metritis and health cows than in the others.

As a result, it has been concluded that beta-carotene, glucose, retinol and cholesterol may be role of in various fertility problems.

**Key Words:** Cow, infertility, beta-carotene, glucose, cholesterol, retinol.

**Özet:** Bu çalışmanın amacı, postpartum dönemde fertilitate problemlili ineklerin kan beta-karotin, retinol, glikoz ve kolesterol düzeylerini araştırmaktır.

Araştırma, yaşları 3-8 arasında değişen, çeşitli fertilitate problemi olan 40 ve sağlıklı 10 (Kontrol) olmak üzere toplam 50 baş Holştayn ırkı inek üzerinde Eylül-Mart aylarında gerçekleştirildi. Çalışma grubu postpartum 40-90. günler arasında bulunan, rektal ve vaginal muayene sonucu metritisli ( $n=15$ ), suböstrüs ( $n=15$ ) ve düzensiz siklus ( $n=10$ ) gösterdiği saptanan ineklerden oluştu. Kontrol grubunu ise postpartum dönemde bulunan ve düzenli siklus gösteren sağlıklı inekler oluşturdu.

Kolesterol ve glikoz değerleri Refletron (Bohringer Mannheim) ile aynı firmanın kitleri kullanılarak, retinol ve beta-karotin düzeyleri ise bildirdikleri UV-Spektro-fotometrik yöntemle belirlendi.

İstatistiksel hesaplamalarda t-test'i kullanıldı.

Çalışma grubunda bulunan metritisli, suböstrüs ve düzensiz siklus gösteren ineklerde kolesterol, glikoz, beta-karotin ve retinol ortalama düzeyleri sırasıyla  $\%190.96\pm24.37$  mg,  $\%66.21\pm6.26$  mg,  $\%103.07\pm27.76$   $\mu$ g,  $\%36.35\pm12.72$   $\mu$ g;  $\%170.14\pm14.23$  mg,  $\%36.11\pm4.13$  mg,  $\%53.07\pm17.26$   $\mu$ g,  $\%46.35\pm12.72$   $\mu$ g;  $\%180.16\pm14.73$  mg,  $\%41.21\pm5.16$  mg,  $\%63.17\pm17.66$   $\mu$ g,  $\%48.35\pm10.22$   $\mu$ g olarak bulundu.

Kontrol grubunda ise kolesterol, glikoz, beta-karotin ve retinol ortalama değerleri ise sırasıyla  $\%239.55\pm28.76$  mg,  $\%67.0\pm6.27$  mg,  $\%125.45\pm22.99$   $\mu$ g,  $\%48.07\pm5.97$   $\mu$ g saptandı.

Düzensiz siklus ve suböstrüs gösteren ineklerin, sağlıklı ve metritisli olanlara oranla beta-karotin ile glikoz düzeyleri düşük bulundu ( $P<0.001$ ). Metritisli ineklerde ise diğerlerine oranla retinol seviyesi düşük belirlendi ( $P<0.001$ ). Diğer ineklerin retinol seviyeleri arasında istatistiksel önem saptanamadı ( $P>0.001$ ). Grup 1'deki ineklerin kolesterol düzeyleri arasında önemli bir farklılık olmasına rağmen, değerler sağlıklı ineklerden daha düşüktü.

Sonuç olarak, çeşitli fertilitate olgularında beta-karotin, glikoz, kolesterol ve retinolün rol oynayabilecekleri kanısına varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** İnek, fertilitate, kolesterol, beta-karotin, glikoz, retinol.

### Giriş

İneklerde fertilitate, genetik, çevre, tohumlama hataları, metabolik hastalıklar, enfeksiyonlar, beslenme yetersizlikleri gibi faktörlerce etkilenebilmektedir (1, 4, 7, 9, 10). Çeşitli araştırmacılar (5, 8, 11, 12, 15) fertilitate üzerine Vit A (retinol) ve beta-karotinin etki-

sinin olduğunu, bunların yetmezliği durumlarında östrüs siklusunda düzensizlikler, suböstrüs, ovulasyon gecikmesi, embriyonik ölüm, abort, prematüre doğum, retensio secundinarum ve endometritis riskinin arttığını bildirmektedirler. Beta-karotin genelde A- vitaminin ön maddesi olarak bilinmekle bera-

ber, yapılan çalışmalar (4, 16, 17) beta-karotinin ineklerde provitamin olma özelliği yanında, döl verimini etkileyen faktörler arasında yer aldığını göstermiştir. Bazı araştırmacılar (2, 3, 13, 17, 14,19, 20) ise, beta-karotince zengin yemlerle beslenen ineklerde gebelik için gerekli tohumlama sayısının daha az olduğunu, inek corpus luteumun (CL) vitamin A içermeyip buna karşı yüksek oranda beta-karotin içerdiğini bildirmişlerdir. Bazı araştırmacılar (2, 8, 10), in vitro beta-karotin ilavesinin CL hücrelerinden progesteron salınımını olumlu etkilediğini ve ilk kıvgınlık, uterus involüsyonu, doğum-yeniden gebe kalma süresinin kıaldığını bildirmektedirler.

Yamada ve ark. (18) kan glikoz düzeyinin fertilite ile yakın bir ilişkisi olduğunu, glikoz düzeyinin postpartum (pp) 11-25. günler arasında en düşük seviyeye indiğini ve doğuma yakın en yüksek glikoz düzeyi saptanan ineklerde en iyi fertilite parametrelerinin elde edildiğini bildirmektedirler. Kappel ve ark. (10) ise, normal kan glikoz düzeyini p.p. 40-50 mg/dl olarak bildirmekte, p.p. 40-60. günler arasında glikoz düzeyinin bu değerden düşük olması durumunda doğum-yeniden gebe kalma aralığının uzadığını belirtmektedirler. Randel (12) ise, düşük enerjili gıdalarla beslenen ineklerde pp dönemde serum LH dalgasının azaldığını, bunun sonucunda kistik ovaryum, ovulasyon gecikmesi, anovulasyon ve yetersiz luteal yapının şekillediğini bildirmektedir. Bu araştırmacılar (10,12) glikozun üreme fonksiyonları için gerekli olduğunu, bunun metabolik inhibitörü olan 2-deoksi-D-glikoz verilen ineklerde östrüs ve CL'un şekillenmediğini bildirmişlerdir.

Bir çok araştırmacı (7, 17, 20) plazma kolesterol düzeyi ile fertilite arasında önemli bir ilişki olduğunu saptamışlardır. Bu araştırmacılar plazma normal kolesterol düzeyinin 125 mg/dl olduğunu, doğumdan önce bu seviyeden aşağı düştüğünü ve p.p. 90. günden sonra tekrar artmaya başladığını bildirmişlerdir.

Bu araştırmanın amacı, postpartum 40-90. günler arasında çeşitli fertilite problemi olan ve sağlıklı ineklerin kan beta-karotin, glikoz, kolesterol ve retinol düzeyleri ile fertilite arasındaki ilişkiyi araştırmaktır.

### Materyal ve Metot

Bu araştırma, yaşları 3-8 arasında değişen, Ankara bölgesinde, kapalı ahır sisteminde barındırılan, ticari yemle beslenen, postpartum 40-90. günler arasında bulunan ve çeşitli fertilite problemi olan 40 ve yapılan muayenelerde fertilite problemi bulunmayan 10 baş (Kontrol) olmak üzere toplam 50 baş Holştayn ırkı inek üzerinde, Eylül-Mart ayları arasında gerçekleştirildi. Çalışma grubu postpartum 40-90. günler arasında bulunan, rektal ve vaginal muayene sonucu metritisli (n=15), suböstrüs (n=15) ve düzensiz siklus (n=10) gösteren ineklerden oluştu. Kontrol grubunu ise yine aynı postpartum dönemler arasında bulunan ve düzenli siklus gösteren sağlıklı inekler oluşturdu.

Her inekten beta-karotin, retinol, glikoz ve kolesterol düzeylerinin belirlenmesi amacıyla, içerisinde herhangi bir kimyasal madde bulunmayan steril tüplere, vena jugularis'ten 10 ml kan alınıp serumları çıkarılarak laboratuvara gönderildi.

Kolesterol ve glikoz değerleri Refletron (Bohringer Mannheim) ile aynı firmanın hazır kitleri kullanılarak, retinol ve beta-karotin düzeyleri ise Suzuki ve Katoh'un (15) bildirdikleri UV-Spektro-fotometrik yöntemle göre saptandı.

İstatistiksel hesaplamalarda t-test'i kullanıldı.

### Bulgular

Ortalama kolesterol, glikoz, beta-karotin ve retinol düzeyleri tablo 1' de sunulmuştur.

**Table 1.** Mean levels of cholesterol, glucose, beta-carotene and retinol are shown.

Çalışma Materyali		Kolesterol (%mg)	Glikoz (% mg)	Beta-karotin (%µg)	Retinol (%µg)
Çalışma grubu	Metritisli (n=15)	190.96 ± 24.37 <sup>b</sup>	66.21 ± 6.26 <sup>b</sup>	103.07 ± 27.76 <sup>b</sup>	36.35 ± 12.72 <sup>a</sup>
	Suböstrus (n=15)	170.14 ± 14.23 <sup>b</sup>	36.11 ± 4.13 <sup>a</sup>	53.07 ± 17.26 <sup>a</sup>	46.35 ± 12.72 <sup>b</sup>
	Düzensiz siklus (n=10)	180.16 ± 14.73 <sup>b</sup>	41.21 ± 5.16 <sup>a</sup>	63.17 ± 17.66 <sup>a</sup>	48.35 ± 10.22 <sup>b</sup>
Kontrol grubu (n=10)		239.55 ± 28.76 <sup>a</sup>	67.0 ± 6.27 <sup>b</sup>	125.45 ± 22.99 <sup>b</sup>	48.07 ± 5.97 <sup>b</sup>

a,b: aynı sütunda değişik harfler taşıyan grup ortalamaları arasındaki farklar önemlidir (P<0.001).

Düzensiz siklus ve suböstrüs gösteren ineklerin, sağlıklı ve metritisli olanlara oranla beta-karotin ile glikoz düzeyleri düşük bulundu; metritisli ineklerde ise diğerlerine oranla retinol seviyesi düşük belirlendi (P<0.001). Diğer ineklerin retinol seviyeleri arasında istatistiksel önem saptanamadı (P>0.001).

#### Tartışma ve Sonuç

Yapılan çalışmalarda beslenme ile fertilité arasında yakın ilişki olduğu bildirilmekte, özellikle kapalı ahır sisteminde barındırılan ineklerde önemli oranda beslenme bozukluklarına bağlı fertilité kayıpları olduğu vurgulanmaktadır (8,10,17). Birçok araştırmacı (10,11,15,20) beta-karotin, retinol, glikoz ve kolesterol düzeyleri ile fertilité arasında ilişki kurmakta ve bu maddelerin konsantrasyonlarının düştüğü durumlarda çeşitli infertilité bozukluklarının olduğunu bildirmektedirler. Block ve Farmer (2) ise, retinol ve beta-karotin düzeylerinin yetmezliği olgularda, hücrel ve humoral bağışıklıkta azalmaya bağlı olarak sekonder enfeksiyonların çıkabildiğini belirtmektedir.

Bazı araştırmacılar (4, 6, 16) ise, özellikle beta-karotin eksikliği olgularında ineklerde retentio secundinarum, uterus involüsyonunda gecikme, suböstrus, anovulasyon, follüküler kist ve erken embriyonik ölümlerin olabileceğini bildirmektedirler. Yapılan bir çalışmada (16) postpartum dönemde kan retinol ve beta-karotin düzeyleriyle fertilité arasında ilişki olduğu, ortalama postpartum 2. ayda bulunan metritisli ve sağlıklı ineklerde retinol ve beta-karotin düzeyleri sırasıyla 34.65±2.81, 79.69±16.89, 73.27±3.11 ve 378±22.95 µg/dl olarak saptanmıştır. Bazı araştırma sonuçlarında 100 µg /dl kan beta-karotin düzeyinin fertilité için kritik bir değer olduğu bildirilmektedir. Inaba ve ark. (9) ise, kan beta-karotin seviyesinin normalin altına düştüğünde ret. sec. ve metritis insidansının artabileceğini, fakat vit A yetmezliklerinde aynı durumun söz konusu olmadığını belirtmektedirler. Can ve ark. (4) endometritis, ovaryum kist'i gibi çeşitli infertilité problemi olan ineklerde vit. A ve beta-karotin düzeylerini 47.05±2.22 ve

98.47±28.60 µg/dl saptamışlardır. Sunulan araştırma sonucunda metritisli ve sağlıklı ineklerde kan beta-karotin düzeyi sırasıyla 103.07±27.76, 125.45±22.99 µg /dl bulundu, bu değer kritik değer üzerinde, suböstrus ve düzensiz siklus gösteren ineklerde ise sırasıyla 53.07±17.26 ve 63.17±17.66 µg /dl saptandı. Bu sonuçlar yukardaki araştırmacıların bulgularına benzerlik taşımaktadır. Özellikle suböstrus ve düzensiz kızgınlık gösteren ineklerde beta-karotinin normalden düşük bulunması, bu olgularda beta-karotinin rolünün olabileceği görüşünü destekler bulunmuştur. Rolü ise progesteron yapımını arttırması, yetersiz progesteron yapımına ilişkin kısa süreli sikluslar veya CL'un yeterince gelişmemesi sonucu oluşabilecek erken embriyonik ölüm rastlantısını azaltmak şeklinde düşünülmektedir.

Sunulan araştırmada kan retinol düzeyi, metritisli ineklerde suböstrüs ve düzensiz östrüs gösterenler ineklere oranla düşük bulunmuştur (P<0.001). Retinolün bağışıklık sistemi üzerinde uyarıcı etkisinin olması, epitel rejenerasyonunu hızlandırdığı bilinmektedir. Noksanlıklarında pp endometriyum rejenerasyonunun olumsuz etkileneceği gözönünde tutulursa, uterus involüsyonunda gecikme ve bunun sonucunda endometritis şansının artması olasıdır. Bu sonuç pek çok araştırmacının (2,4,8) görüşlerine paralellik taşırken Inaba ve ark. (9)'nın bulgularından farklıdır. Bu farklılığın araştırma sonucunda saptanan vit. A düzeyinin Inaba ve ark. (9)'nın belirttiği değerden düşük olmasından kaynaklanabileceği, bununla birlikte metritislere multi-etyolojik faktörlerin yol açabileceğinin dikkate alınması gerektiği düşünülmektedir.

Yapılan çalışmalarda (6,10,17) fertilitte parametrelerinin yüksek olduğu ineklerde p.p. 39-90. günler arasında kolesterol düzeyi yük-

sek iken, fertilitesi düşük ineklerde kolesterol düzeyini normal sınırların altında bulunmuş, p.p. ovaryum aktivitesinin başlamasında kolesterol ile progesteron arasında pozitif bir ilişki olduğu bildirilmiştir. Bu araştırmada ise çalışma grubunda bulunan ineklerde kolesterol düzeyi kritik değer üzerinde ve sağlıklı ineklerden ise belirgin şekilde düşük saptandı. Bu sonuçlar yukardaki araştırmacıların bulgularına benzerlik taşımaktadır. Suböstrüs ve düzensiz siklus gösteren ineklerde metritisli ve sağlıklı ineklere oranla kolesterol düzeyindeki değişiklik (P<0.001) kolesterolün suböstrüs ve düzensiz sikluslarda etkili olduğunu, önemi ise progesteron yapımında anahtar madde olması tarzında açıklanabilir.

Bazı araştırma (10,18,21) sonuçlarında, kan glikoz düzeyinin fertilitte ile yakın bir ilişkisi olduğu, doğuma yakın en yüksek glikoz düzeyi saptanan ineklerde en iyi fertilitte parametrelerinin elde edildiği bildirilmiştir. Kappel ve ark. (10) normal kan glikoz düzeyini postpartum 40-50 %mg olarak bildirmekte, p.p. 40-60. günler arasında glikoz düzeyinin normalden aşağı düştüğü durumlarda doğum yeniden gebe kalma aralığının uzadığını belirtmektedirler. Randel (12) düşük enerjili gıdalarla beslenen ineklerde pp dönemde serum LH dalgasının azaldığını, bunun sonucunda kistik ovaryum, ovulasyon gecikmesi, anovulasyon ve yetersiz luteal yapının şekillediğini bildirmektedir.

David (6) ile Villa-Godoy ve ark.(21), sütçü ineklerde enerji düzeyi ile serum progesteron konsantrasyonu arasında direkt bir ilişki olduğunu, aşırı kalori ihtiyacı olduğu durumlarda sikluslarda luteal fonksiyon bozukluklarının görüldüğünü belirtmişlerdir. Bu araştırma sonucunda kan glikoz değerinin özellikle suböstrüs ve düzensiz siklus gösteren ineklerde, metritisli veya sağlıklı olanlardan

daha düşük bulunması, glikoz ile bu olgular arasındaki ilişkinin olabileceğini düşündürmektedir. Glikoz eksikliğine bağlı fertilité kayıplarının bazı hormonların salınımındaki mekanizma bozukluklarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak, çeşitli infertilite olgularında beta-karotin, glikoz, kolesterol ve retinol arasında bir ilişkinin olabileceği kanısına varıldı.

#### Kaynaklar

1. Aksakal, M., Karakılıçık, A.Z., Kalkan, C., Çay, M. ve Nazıroğlu, M. (1995). *İneklerde üremenin çeşitli dönemlerinde beta-karoten ve E vitamini düzeyleri*. Tr J of Vet Anim Sci, 19: 59-64.
2. Block, E. and Farmer, B., (1987). *The status of beta-karoten and vit-A in Quebec dairy herds: factors affecting their status in cows and their reproductive performance*. Can J Anim Sci. 67: 775-788.
3. Butera, S. T. and Krakowa, S. (1986). *Assesment of lymphocyte function during vitamin A deficiency*. Am J Vet Res, 47: 850-885.
4. Can, R., Yılmaz, C. ve Gül, Y. (1986). *İnfertil ineklerde plazma A vitamini ve beta-karoten üzerinde bir araştırma*. Doğa-Tr J of Vet Sci 10: 18-23.
5. Chew, B.P., Luedecke, L.O. and Holpuch, D.M. (1984). *Effect of dietary vitamin A on resistance to experimental stapylococcus mastitis in cow*. J Dairy Sci, 67: 2566-2570.
6. David. M.C.(1991). *The effect of milk production on reproductive performance in the high producing and BST supplemented dairy cow*. The Bovine Practitioner 26:68-72.
7. Dembinski, Z. and Bronicki, M. *Concentration of progesteron in the blood of cows obtaining different amounts of beta-carotene in food*. In Proceedings 18<sup>th</sup> World Buiatrics Congress, Bologna, Italy, 1994. 325-328.
8. Graves-Hoagland, R., Hoagland, T.A. and Woody, C.O. (1988). *Effect of beta-karotene and vitamin A on progesterone by bovine luteal cells*.
9. Inaba, T., Inoue, A., Shimizu, R., Nakano, Y. and Mori, J. (1986). *Plasma concentration of progesterone, estrogens, vitamin A and beta-carotene in cows with retaining fetal membranes*. Jap J Vet Sci, 48: 505-508.
10. Kappel, L.C., Ingraham, R.H., Morgan, E.B., Zeringue, L., Wilson, D. and Babcock, D.K. (1990). *Relationship between fertility and blood glucose and cholesterol concentrations in Holstein cows*. Am J Vet Res, 45: 2607-2612.
11. Lotthammer, K.H., Ahlswede, L. und Meyer, H. (1976). *Untersuchungen über eine spezifische, vitamin A-unabhaengige Wirkung des Beta-carotins auf die Fertilitat des Rindes. II. Mitteilung: Weitere klinische Befunde und Befruchtungs ergebnisse (Versuch III)*, Dtsch Tierarztl Wschr, 83(8): 353-354.
12. Randel, R.D. (1990). *Nutrition and postpartum rebreeding in cattle*. J Anim Sci 68:853-862.
13. Schweigert, F.J. and Zucker, H. (1988). *Transfer of beta-carotene into colostrum in the cow*. Internat J. Vit. Nutr Res, 63: 75-83.
14. Smith, S.M. and Hayes, C.E. (1987). *Contrasting impairments in IgM and IgG responses of vitamin A deficient mice*. Proc Natl Acad Sci, 84: 5878-5882.
15. Suzuki, J.I. and Katoh, N. (1990). *A simple and cheap methods for measuring serum vit-A in cattle using only a spectrophotometer*. Jpn J Vet Sci 52(6): 1281-1283.

- 16. Tekpetey, F.R., Palmer, W.M. and Ingalls, J.R. (1987).** *Seasonal variation in serum beta-carotene and vitamin A and their association with postpartum reproductive performance of Holstein cows.* Can J Anim Sci, 67: 491-500.
- 17. Tiftik, A. M. and Nizamlioğlu, M. (1992).** *İneklerde plazma retinol, beta-karoten düzeyleri ve bu düzeylerle çeşitli postpartum hastalıklar arasındaki ilişkiler.* Doğa-Tr J of Vet Sci 16: 177-186.
- 18. Yamada, K., Sononaka, A., Minami, S., Miyano, M., Nakao, S., Moriyoshi, M. and Kawata, K. (1994).** *Relationship between nutritional state during dry and mid-lactation period and periparturient complications and subsequent reproductive performance in dairy cows.* In Proceedings 18<sup>th</sup> World Buiatrics Congress, Bologna, Italy, 1994, 285-289.
- 19. Yılmaz, K., Can, R. ve Erkal, N. (1992).** *Laktasyondaki ineklerin bazı kan özelliklerinin araştırılması.* Doğa-Tr J Vet Anim Sci 16: 259-267.
- 20. Wang, J.Y., Hafi, C.B., Owen, F.G. and Larson, L.L. (1987).** *Effect of beta-carotene supplementation on periparturient health and reproduction of Holstein cows.* Anim Rep Sci 15: 133-144.
- 21. Villa-Godoy, A., Hughes, T.L. and Emery, R.S. (1981).** *Association between energy balance, milk production and ovulation in postpartum Holstein cows.* J Anim Sci, 53:742.