

بررسی مقادیر سرمی ویتامین A و بتاکاروتن در گوساله های تازه متولد شده نژاد هلشتاین

بهرام عمواوغلی تبریزی^{۱*}، مرتضی جامعی^۲، علی حسن پور^۳

۱- استادیار، گروه آموزشی علوم درمانگاهی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، تبریز، ایران

۲- دانش آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، تبریز، ایران

۳- دانشیار، گروه آموزشی علوم درمانگاهی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، تبریز، ایران

(دریافت مقاله: ۹۲/۱۱/۲۸ پذیرش نهایی: ۹۳/۳/۱۵)

چکیده

هدف از انجام این تحقیق تعیین غلظت سرمی ویتامین A و بتاکاروتن سرم گاوهای آبستن و گوساله های آنها در زمان تولد و پس از مصرف آغوز (۲۴ و ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد از تولد) می باشد. برای انجام این تحقیق با مراجعه به گاو‌داریهای شیری، از ۴۰ راس گاو آبستن پا به ماه و تقریباً هم سن (۶-۵ سال) نژاد هلشتاین و گوساله های متولد شده از آنها در زمان تولد و زمانهای ۲۴ و ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد از تولد خون گیری به عمل آمد. بعد از جدا نمودن سرم، ویتامین A و بتاکاروتن نمونه ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر به روش N-هگزان اندازه گیری شدند. بررسی نتایج آماری نشان داد که میانگین مقادیر سرمی ویتامین A در گوساله ها نسبت به مادران بالاتر است ($p < 0/05$) در حالیکه میانگین مقادیر سرمی بتاکاروتن در گوساله ها در زمان تولد نسبت به مادران به طور معنی داری ($p < 0/05$) کمتر است ولی در زمانهای ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد از تولد به طور معنی داری بیشتر است ($p < 0/05$). میانگین مقادیر سرمی ویتامین A در گوساله های ماده نسبت به نر بیشتر بود ($p < 0/05$) ولی میانگین مقادیر بتاکاروتن در بین جنس نر و ماده اختلاف آماری معنی داری نشان نداد ($p > 0/05$). نتایج این مطالعه نشان می دهد استفاده از آغوز در زمان تولد به منظور کسب مواد مورد نیاز برای گوساله به خصوص پیش ساز ویتامین A ضروری است.

واژگان کلیدی: ویتامین A، بتاکاروتن، گاو هلشتاین، آغوز.

مقدمه

اعمال بافتها و اندامها شوند. از میان این ویتامین‌ها، ویتامین A و همچنین پیش ساز آن بتاکاروتن نقش مهمی در تغذیه و متابولیسم دارد (شماغ و همکاران، ۱۳۸۱؛ شهبازی و همکاران، ۱۳۷۵؛ کریمزاده و همکاران، ۱۳۷۷).

ویتامین‌ها در حفظ یکپارچگی، قابلیت تکثیر، کارکردهای فیزیولوژیک طبیعی و سلامتی انسان و حیوان ضروری می‌باشند و کمبود آنها در بدن می‌تواند باعث بروز علائم بالینی و یا تغییر در روند طبیعی

*- پست الکترونیکی نویسنده مسئول: bahram_tabrizi1353@yahoo.com

تداخل مواد با جذب ویتامین، جلوگیری از تبدیل بتاکاروتن به رتینول در روده کوچک و یا افزایش نیاز به ویتامین در صورت دریافت محدود آن است. به نظر می‌رسد ویتامین A ساخته شده در شکمبه و شیردان توسط میکروفلور به شدت تخریب می‌گردد (Smith, 2009; Radostits, et al., 2007). کمبود ثانویه ویتامین A در شرایط زیر بیشتر وقوع می‌یابد: ۱- فقر فسفر جیره غذایی ۲- بالا بودن میزان نیترات و نیتريت جیره. ۳- مسمومیت با نفتالین کلرینه ۴- بیماری‌های روده‌ای (به ویژه از نوع مزمن) ۵- بیماری‌های کبدی ۶- اکثر بیماری‌های تب دار و بالا بودن دمای محیط زندگی به مدت طولانی (Radostits, et al., 2007; Smith, 2009).

مواد و روش کار

این تحقیق در بهار سال ۱۳۸۸ در دو گاوداری شیری اطراف تبریز، بر روی ۴۰ راس گاو آبستن پا به ماه و تقریباً هم سن (۶-۵ سال) و گوساله های متولد شده از آنها (۲۰ راس ماده و ۲۰ راس نر)، انجام گرفت. شرایط محیطی، مدیریتی و تغذیه ای در هر دو گاوداری کاملاً یکسان بود و آغوز برای گوساله‌ها به صورت دستی و با توجه به وزن آنها تجویز می‌شد. در زمان تولد و زمان های ۲۴ و ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد از تولد خون‌گیری از ورید دم توسط ونوجکت به عمل آمد. نمونه‌های خونی در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل و سرم به وسیله دستگاه سانتریفوژ با دور ۲۵۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه جدا و در میکروتیوپها تا زمان آزمایش در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد و در تاریکی قرار داده شد. در تمام مراحل نمونه گیری سعی شد که همولیز صورت نگیرد و اگر در نمونه‌ای همولیز انجام شده بود حذف گردد. بعد از جمع‌آوری تمام نمونه‌ها، ویتامین A

ویتامین A یکی از ویتامینهای محلول در چربی است که از اعمال آن می‌توان به حفظ و بقای بافت پوششی و مخاطات، رشد و سلامتی، دید چشم، تولید مثل اشاره کرد. در جیره غذایی ویتامین A اغلب به صورت استرهای رتینول با اسیدهای چرب با زنجیره بلند وجود دارند و پیش ساز آن نیز بتاکاروتن است (کریم‌زاده و همکاران، ۱۳۷۷; Blaszk., 1990). کمبود ویتامین A ممکن است در نتیجه جیره غذایی فقیر یا در اثر اختلال در جذب آن در دستگاه گوارش ایجاد شود (Radostits, et al., 2007). ویتامین A نشخوارکنندگان بالغ به طور عمده از بیوسنتز پیش ساز آن یعنی کاروتنوئیدهای موجود در گیاهان تامین می‌شود و اما در نوزادان و پیش از شکل گرفتن رژیم علفخواری ویتامین A به صورت رتینول توسط خوردن شیر یا آغوز مادر و یا به حالت ویتامین A استریفه شده مانند استرهای نظیر استات، پروپیونات و پالمیتات در چربی‌های حیوانی که مکمل‌های ویتامین A می‌باشند و به صورت دستی به جیره اضافه می‌شوند دریافت می‌شود (شاکر حسینی و همکاران، ۱۳۸۳؛ قدردان مشهدی و همکاران، ۱۳۸۲؛ Anonymos., 1998).

کمبود ویتامین A به صورت اولیه یا ثانویه رخ می‌دهد. کمبود اولیه در مواقعی که دامها برای مدت طولانی در آغل باشند و با علوفه خشک و بدون افزودن مکمل حاوی ویتامین A به جیره غذایی تغذیه شوند، بروز می‌کند. وضعیت مادر از لحاظ ذخایر ویتامین A بر روی جنین اثرات متفاوتی دارد. بطور کلی کاروتنی که در علوفه سبز وجود دارد قادر به عبور از جفت نمی‌باشد، بنابراین خوراندن علوفه سبز به دامهای آبستن موجب ذخیره شدن ویتامین در کبد گوساله و بره نمی‌شود (Radostits, et al., 2007) و (Smith, 2009). کمبود ثانویه ویتامین A حاصل

و بتاکاروتن به روش N-هگزان که شامل مراحل استخراج با الکل اتیلیک ۹۶٪، مرحله خالص سازی با N- هگزان و مرحله فرائت توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۳۲۵ و ۴۵۳ نانومتر بود اندازه‌گیری شدند (Suzki, et al., 1990).

مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۴ و به روش آماری ANOVA صورت گرفت.

جدول ۱ میانگین مقادیر سرمی ویتامین A را بر حسب میکروگرم در دسی لیتر در گوساله بر حسب جنسیت نشان می‌دهد. با گذشت زمان مقادیر سرمی ویتامین A در هر دو جنس افزایش معنی داری نسبت به زمان تولد نشان می‌دهد. همچنین مقایسه بین دو جنس نر و ماده در هر زمان نیز اختلاف آماری معنی داری را بین این دو جنس نشان می‌دهد ($p < 0.05$). به طوری که میزان ویتامین A در جنس ماده بیشتر از جنس نر است.

جدول ۲ میانگین مقادیر سرمی ویتامین A را بر حسب جنسیت نر و ماده مشخص می‌کند. میانگین بتاکاروتن در جنس نر و ماده در زمان تولد کمترین مقدار را دارد و بعد آن افزایش معنی داری مشاهده می‌شود ($p < 0.05$). اما بین جنس‌ها در زمان‌های مختلف، اختلاف آماری معنی داری مشاهده نشد ($p > 0.05$).

جدول ۱ میانگین مقادیر ویتامین A و بتاکاروتن را بر حسب میکروگرم در دسی لیتر نشان می‌دهد. میزان ویتامین A در مادر قبل و حین زایمان نسبت به گوساله کمتر بوده و این مقادیر در گوساله‌ها بعد از تولد، نسبت به مادر افزایش آماری معنی داری را نشان داد ($p < 0.05$). بیشترین مقدار ویتامین A در نمونه خونی اخذ شده در زمان ۲۴ ساعت بعد تولد در گوساله بود. مقایسه آماری میانگین بتاکاروتن سرم در زمان‌های مختلف کاهش آماری معنی داری در گوساله‌ها در زمان تولد نسبت به بقیه گروه‌ها نشان می‌دهد.

نتایج

جدول ۱- مقایسه میانگین مقادیر سرمی ویتامین A و بتاکاروتن در گاوهای آبستن و تازه‌زا با گوساله‌ها در زمان‌های مختلف پس از تولد

مادر قبل زایمان	مادر بلافاصله پس از زایمان	گوساله بلافاصله پس از تولد	۲۴ ساعت بعد تولد	۴۸ ساعت بعد تولد	۷۲ ساعت بعد تولد
۴۷/۹۶±۳/۱۵ ^a	۴۹/۶۷±۳/۶۷ ^a	۶۰/۶۹±۴/۵۰ ^b	۹۰/۳۱±۵/۵۷ ^{b*}	۷۸/۱۵±۴/۰۴ ^{b*}	۸۱/۹۴±۶/۸۲ ^{b*}
۳۳/۹۹±۲/۵۰ ^a	۳۵/۲۳±۲/۲۲ ^a	۲۵/۳۸±۴/۲۴ ^b	۶۶/۳۹±۴/۷۵ ^c	۶۱/۹۹±۴/۱۶ ^c	۶۰/۵۵±۴/۹۹ ^c

حروف نامشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در مقایسه با مادر قبل و حین زایمان است ($p < 0.05$). ستاره نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تولد در مقایسه با گوساله‌ها در زمان تولد است ($p < 0.05$).

جدول ۲- مقایسه میانگین مقادیر سرمی ویتامین A در گوساله های نر و ماده در زمانهای مختلف پس از تولد

زمان تولد	۲۴ ساعت بعد تولد	۴۸ ساعت بعد تولد	۷۲ ساعت بعد تولد	ویتامین A در جنس نر µg/dl
۶۰/۲۳±۴/۴۹ ^a	۷۵/۲۸±۱/۹۷ ^b	۷۲/۲۷±۲/۱۴ ^b	۷۴/۳±۳/۷۴ ^b	
ویتامین A در ماده µg/dl	۶۱/۱۵±۶/۲۲ ^a	۱۰۵/۳۵±۵/۳۱ ^{b*}	۸۴/۰۳±۲/۱۵ ^{b*}	۸۹/۵۶±۳/۹۶ ^{b*}

حروف نامشابه در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در مقایسه با گوساله ها در زمان تولد است ($p < 0.05$).
وجود ستاره دلیل بر اختلاف معنی دار بین جنس نر و ماده است ($p < 0.05$).

جدول ۳- مقایسه میانگین مقادیر سرمی بتاکاروتن در گوساله های نر و ماده در زمانهای مختلف پس از تولد

در زمان تولد	۲۴ ساعت بعد تولد	۴۸ ساعت بعد تولد	۷۲ ساعت بعد تولد	بتاکاروتن در نر µg/dl
۲۵/۸۳±۴/۶۱ ^a	۶۴/۱۸±۵/۲۶ ^b	۵۸/۲۶±۲/۴۳ ^b	۵۷/۴۰±۴/۱۳ ^b	
بتاکاروتن در ماده µg/dl	۲۴/۹۴±۳/۲۶ ^a	۶۸/۶۰±۴/۸۹ ^b	۶۵/۷۳±۵/۱۸ ^b	۶۴/۷۲±۵/۸۷ ^b

حروف نامشابه در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در مقایسه با گوساله ها در زمان تولد است ($p < 0.05$).

بحث و نتیجه گیری

می یابد و میزان جذب ۹۵-۸۱ درصد در هفته اول بعد از زایمان است. میزان ویتامین A در گوساله های تازه متولد شده وابسته به ویتامین A آغوز و ویتامین A عبوری از جفت است (Kume, et al., 2001). بالا بودن میانگین سرمی ویتامین A در گوساله ها در زمان تولد می تواند ناشی از ورود این ویتامین از طریق جفت به بدن گوساله ها باشد اما در نمونه های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تولد علت اصلی افزایش آن می تواند خوراندن آغوز به گوساله ها باشد که دارای مقدار قابل توجهی ویتامین A می باشد. دامهای نوزاد از نظر ویتامین A خون کاملاً وابسته به شیر مادر هستند و با ذخیره مقدار بالای ویتامین A موجود در آغوز، به تدریج ظرف چند روز این میزان به حالت طبیعی برمی گردد (Radostits, et al., 2007). طالقانی در سال ۱۳۸۱ مقدار سرمی ویتامین A را در گاوهای با سن کمتر یک سال $43/5 \pm 5/9$ میکروگرم/دسی لیتر گزارش کردند. مگلیا و همکاران در سال ۲۰۰۴ بیان کردند که ویتامین A، E، سلنیم و روی برای سلامتی کارایی گاوهای شیری ضروری است. کاهش غلظت

کمبود ویتامین A در نشخوارکنندگان می تواند سبب ضرر های اقتصادی زیادی از جمله کاهش تولید، کاهش وزن، کوری، سقط جنین و ناقص الخلقه زایی شود (Blaszcz, 1990). در این بررسی میانگین سرمی ویتامین A در گاوهای آبستن قبل از زایمان و مادر بلافاصله پس از زایمان $47/96 \pm 3/15$ و $49/67 \pm 3/67$ میکروگرم/دسی لیتر بود. این مقدار در محدود نرمال یعنی در محدوده ۸۵-۲۵ میکروگرم می باشد (Radostits, et al., 2007) و با نتایج طالقانی در سال ۱۳۸۱ که مقادیر ویتامین A سرمی جنس ماده را در گاو و گاو میش $49/4 \pm 4/81$ میکروگرم/دسی لیتر ذکر کردند سازگاری دارد. حسن پور و همکاران (۱۳۸۹) مقدار سرمی ویتامین A را در گاوهای شیری ۲ تا ۴ شکم زایش $27/59 \pm 1/22$ میکروگرم/دسی لیتر گزارش کردند. نتایج کومه و همکاران در سال ۲۰۰۱ نشان داد که میزان ویتامین A آغوز گاوهای تازه زایمان کرده $32 - 450$ (122 ± 77) میکروگرم/دسی لیتر می باشد و جذب ویتامین A در شش روز اول بعد از تولد افزایش

می‌باشند که شامل ۳ نوع آلفا، بتا و گاما هستند که نوع بتا به دلیل ایجاد دو ملکول ویتامین A مهم‌ترین کاروتنوئیدها می‌باشد. بتاکاروتن بعد از ورود به بدن از راه غذایی می‌تواند ویتامین A تبدیل شود و قسمتی نیز می‌تواند در کبد ذخیره و به ویتامین A تبدیل شود. دلیل پایین بودن بتاکاروتن در گوساله‌ها در حین تولد را می‌توان به عدم عبور کاروتن از جفت نسبت داد. به عبارت دیگر کاروتن موجود در علوفه سبز که مورد تغذیه دام آبستن قرار می‌گیرد قادر به عبور از راه جفت نمی‌باشد و فقط مقدار محدودی می‌تواند عبور کند بنابراین میزان بتاکاروتن موجود در سرم گوساله کمتر خواهد بود (Radostits, et al., 2007). اما بتاکاروتن به مقدار زیادی می‌تواند وارد آغوز شود و دلیل افزایش بتاکاروتن بعد از خوردن آغوز را می‌توان به بالا بودن میزان بتاکاروتن آغوز نسبت داد (Radostits, et al., 2007). همچنین مقایسه بتاکاروتن بین دو جنس نر و ماده در گوساله‌های متولد شده اختلاف آماری معنی‌داری نشان نمی‌دهد ($p > 0/05$). اما این مقادیر در دامهای ماده بیشتر از نر است که شاید دلیل آن همان علت ذکر شده در رابطه با ویتامین A باشد که از لحاظ اقتصادی دامهای ماده با ارزش هستند و میزان رسیدگی و مدیریت به آنها بیشتر است. در تحقیقی که قدردان مشهدی و همکاران در سال ۱۳۸۲ بر روی گاوهای کشتاری انجام داده است، سطح بتاکاروتن سرم دام ماده از نر بیشتر بوده است. کاواشیما و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان دادند که غلظت بتا کاروتن پلاسما در گاوهای شیری قبل از زایمان کاهش دارد. (Kawashima, et al., 2009) حسن پور و همکاران در سال ۱۳۸۹ مقدار سرمی بتاکاروتن را در گاوهای شیری ۲ تا ۴ شکم زایش $18/88 \pm 2/60$ میکروگرم/دسی لیتر گزارش کردند. نتایج کومه و همکاران در سال

سرمی ویتامین A مادر قبل از زایمان شاید به دلیل کاهش اشتها باشد که اگر این کمبود بیش از اندازه باشد مشکل کمبود در گوساله‌ها را نیز فراهم خواهد کرد اگر چه این کمبود وابسته به میزان ذخیره کبدی مادر است. (Meglia, et al., 2004)

میانگین سرمی ویتامین A در گوساله‌های نر و ماده در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تولد اختلاف آماری معنی‌داری نشان می‌دهد. در گاوداری‌ها از لحاظ اقتصادی گوساله‌های ماده ارزش بیشتری دارند بنابراین مراقبت و تغذیه از گوساله‌ی ماده به مراتب بیشتر از نر می‌باشد. با توجه به این که همراه با تغذیه از آغوز از سایر مکملهای مواد معدنی، الکترولیتی و ویتامین برای این گروه از گوساله استفاده می‌شود احتمالاً دلیل بالا بودن ویتامین A در گوساله‌های ماده این باشد. طالقانی در سال ۱۳۸۱ در بررسی میزان ویتامین A سرمی جنس نر و ماده در گاو و گاو میش نیز اختلاف آماری معنی‌داری گزارش کردند. قدردان مشهدی و همکاران در سال ۱۳۸۲ گزارش نمودند که مقدار سرمی ویتامین A گاو در جنس ماده بیشتر از جنس نر است و توجه آن را تزریق ویتامین A در گاوداریهای صنعتی جهت بالا بردن کیفیت تولید مثل ذکر کردند.

مقایسه میزان بتاکاروتن در گاوهای آبستن قبل و بلافاصله بعد از زایمان نسبت به گوساله در زمان تولد اختلاف آماری معنی‌داری نشان می‌دهد ($p < 0/05$). به طوریکه میزان بتاکاروتن در گوساله‌ها در زمان تولد نسبت به مادر کمتر است اما بعد از تولد و با خوردن آغوز این مدت یعنی در زمانهای ۲۴، ۴۸ و ۷۲ افزایش آماری معنی‌داری نسبت به زمان صفر یا تولد نشان می‌دهد ($p < 0/05$).

کاروتنوئیدها به عنوان پیش ساز ویتامین A

چنین نتایجی توسط کومه و همکاران در سال ۲۰۰۱ در گاو و گی و همکاران در سال ۲۰۰۱ در اسب گزارش شده است. (Kume, et al., 2001; Gay, et al., 2001) نتایج تحقیق در سال پووگل و همکاران در ۲۰۰۸ نشان داد در گوساله های تازه متولد شده میزان ویتامین A و بتاکاروتن کم بوده و تبدیل بتاکاروتن به ویتامین A محدود می باشد. آغوز حاوی مقدار نسبتاً زیادی ویتامین A و بتا کاروتن است و می تواند ویتامین A و بتا کاروتن گوساله را تامین کند. افزوده مکمل ویتامین A در طول دوره خشکی می تواند باعث افزایش غلظت رتینول پلاسما و آغوز شود (Puvogel, et al., 2008).

نتایج این مطالعه نشان می دهد تغذیه از آغوز علاوه بر تامین نیازهای اساسی گوساله ها در فراهم نمودن ویتامین A و پیش ساز آن کارآمدی دارد.

۲۰۰۱ نشان داد که میزان بتا کاروتن آغوز گاوهای تازه زایمان کرده ۳۴۲/۹ - ۱۷/۸ (۱۶۹±۸۵) میکروگرم/دسی لیتر بود. بتا کاروتن آغوز ارتباط مثبت با بتا کاروتن سرم گوساله ها در شش روز اول زندگی دارد. و بتا کاروتن سرم گوساله ها در این دوره کاملاً وابسته به بتا کاروتن آغوز می باشد. میزان جذب بتا کاروتن ۳۸-۶۵ درصد در هفته اول بعد از زایمان است (Kume, et al., 2001).

بررسی های کولامون و همکاران در سال ۲۰۱۱ نشان دادند غلظت بتا کاروتن در دوره خشکی کاهش می یابد بنابراین افزودن مکملهای بتا کاروتن به گاوهای شیری در دوره خشکی باعث افزایش میزان بتا کاروتن خون و آغوز می شود اما در بتا کاروتن خون گوساله تاثیری ندارد. (Kaewlamun, et al., 2011) چون سلولهای جفتی اجازه عبور بتا کاروتن را نمی دهند.

منابع

- حسن پور، ع. قاسم زاده، ا. داوودی، ی. (۱۳۸۹). بررسی تأثیر مکمل روی بر سطح سرمی روی، ویتامین A و بتاکاروتن در گاو شیری. مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تهران، شماره ۱۱، سال چهارم ۶۳-۶۸.
- شاکر حسینی، ر. آزاد وقت. ا. (۱۳۸۳). ویتامین ها، انتشارات دانشگاه شهید بهشتی.
- شماع، م. ساعدی، ه. نیکپور تهرانی، ک. (۱۳۸۱). اصول تغذیه دام و طیور، انتشارات دانشگاه تهران، جلد اول، چاپ هشتم.
- شهبازی، پ. ملک نیا، ن. (۱۳۷۵). بیوشیمی عمومی، انتشارات دانشگاه تهران.
- طالقانی، ع. (۱۳۸۱). بررسی تغییرات فصلی میزان ویتامین A و بتاکاروتن سرم گاو و گاو میش در شهرستان مرند، پایان نامه برای دریافت درجه دکترای دامپزشکی، دانشگاه آزاد تبریز.
- قدردان مشهدی، ع. تقی پور بازرگانی، ت. سکانی، س. پورکبیره، م. (۱۳۸۲). بررسی پارامترهای ویتامین A و بتاکاروتن سرم و کبد در گاو، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، شماره ۲، دوره ۵۸.
- کریم زاده، ح. ر. (۱۳۷۷). بیوشیمی هارپر، انتشارات شهر آب.

- AnonyMous, (1998). The European Agency for the Evaluation of medicinal Products Veterinary Medicines and inspections, <http://www.EMEA.Eu.int>.
- Blaszk, K., (1990). The relationship of the content of Beta-Carotene in blood serum with fertility disorders in cow, *Veterinary Bullentin*, vol: 60, No 12, Abstract 8375.
- Gay, L.S., Kronfeld, D.S., Grimsley-Cook, A., Dascanio, J.J., Ordakowski-Burk, A.O., Splan, R.K., Dunnington, E.A., Sklan, D.J., (2004). Retinol, β -carotene and β -tocopherol concentrations in mare and foal plasma and in colostrum. *Journal of Equine Veterinary Science*. 24, 115–120.
- Kaewlamun,W., Okouyi, M., Humblot,P., Remy,D., Techakumphu,M., Duvaux-Ponter,C., Ponter, A.A., (2011). The influence of a supplement of -carotene given during the dry period to dairy cows on colostrum quality, and β -carotene status, metabolites and hormones in newborn calves. *Animal Feed Science and Technology*. 165, 31–37
- Kume, S., Toharmat, T., (2001). Effect of colostrum β -carotene and vitamin A on vitamin and health status of newborn calves. *Livestock Production Science*, 68, 61–65.
- Kawashima, C., Kida, K., Schweigert, F.J., Miyamoto, A., (2009). Relationship between plasma β -carotene concentrations during the peripartum period and ovulation in the first follicular wave postpartum in dairy cows. *Animal Reproduction Science*. 111, 105–111.
- Meglia, G.E., Holtenius, K., Petersson, L., Ohagen, P., Waller K., (2004). Prediction of Vitamin A, Vitamin E, Selenium and Zinc Status of Periparturient Dairy Cows Using Blood the Mid Dry Period, *Acta Veterinary Scand*. 45, 119-128.
- Puvogel, G., Baumruckev, C., Blum, J. W., (2008). Plasma vitamin A status in calves fed colostrum from cows that were fed vitamin A during late pregnancy. *Journal of animal physiology and animal nutrition (Berl)* 92,5: 614-20.
- Radostits, O. M., Gay, C.C., Hinchcliff,K.W., Constable, P.D.,(2007). *Veterinary Medicine, a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*, 10th edition. Elsevier publishing, pp: 1771-1777.
- Smith, B.P., (2009). *Large Animal Internal Medicine*, 3th ed, Saunders Company.1028-1030.
- Suzki, J., Katch, N., (1990). A Simple and cheap Methods for measuring serum Vitamin A in Cattle using only a spectrophotometer, *Japanese Journal of Veterinary Science*. 52: 1281-1283.