

**DIE INVLOED VAN SELENIUM EN  $\beta$ -KAROTEENTOEDIENING  
OP GESELEKTEERDE PLASMAPARAMETERS EN DIE  
DRAGTIGHEIDSYFER VAN ONTVANGERKOEIE TYDENS EMBRIO-  
OORPLASING**

**deur**

**FLORIS JOHANNES BRUWER**

**Promotor: Professor H.J. Bertschinger**

**Voorgelê ter gedeeltelike vervulling van die  
vereistes vir die graad M Med Vet (Gyn)**

**in die Departement Geslagskunde  
Fakulteit Veeartsenykunde  
Universiteit van Pretoria  
PRETORIA 0002**

**Maart 2000**



## ABSTRACT

142 recipients were assigned to 4 test groups and treated as follows: Group 1, 50 mg Se and 1500 mg vit E intramuscularly, 6 and 3 weeks before embryo transfer. Group 2, 300 mg  $\beta$ -carotene orally 6 weeks before transfer. Group 3, combination of Groups 1 and 2. Group 4, negative control. All received vit ADE orally 6 weeks before transfer. The results at transfer for Groups 1 to 4, respectively, were: RBS GSH-Px activities 7,49; 6,61; 10,75 and 4,5 EU  $1 \times 10^{10}$ ,  $\beta$ -carotene 8,72; 10,13; 9,53 and 8,5  $\mu\text{mol}/\ell$ . The following parameters were significantly correlated: Se administration with RBS GSH-Px activities;  $\beta$ -carotene administration with RBS GSH-Px and with  $\beta$ -carotene plasma levels;  $\beta$ -carotene with  $\alpha$ -tocoferol; RBS GSH-Px with retinol and with corpus luteum size; retinol with progesterone; oestrus length with the interval between prostaglandin administration and occurrence of oestrus. No correlations with pregnancy rate were noted.



## BEDANKINGS

Kanhym Estates vir die ondersteuning van hierdie studie en bydraes gelewer deur toegelate studietyd vir klasse, verskaffing van vervoer na die Universiteit van Pretoria en diere vir die projek.

Kanhym Stoet personeel vir die hantering van die diere gedurende die projek en hulpverlening tydens embriospoeling en oorplasing.

Prof H Bertschinger vir sy leiding en bydrae in die samestelling van die verhandeling.

Roche Products (Pty) Ltd, South Africa vir die vitamien A en E en die  $\beta$ -karoteen bepaling.

Roche Products(Pty) Ltd, South Africa vir die skenking van die  $\beta$ -karoteen vir die proef.

Die statistikus, dr Lisa van der Merwe, US, vir die statistiese bepaling, leiding in die hantering van die statistiek in die verhandeling asook die finale tik en oorplasing van die figure en die grafieke na die verhandeling.

My vrou, Rentia, vir haar geduld, bystand en ondersteuning gedurende die studietye.



## INHOUDSOPGAWE

<b>HOOFSTUK 1 INLEIDING</b>	<b>1</b>
<b>HOOFSTUK 2 LITERATUUROORSIG</b>	<b>3</b>
<b>2.1 <math>\beta</math>-KAROTEEN</b>	<b>3</b>
2.1.1 Metode van werking	3
2.1.2 Effek van $\beta$ -karoteen op steroïed hormone	4
2.1.3 Effek van $\beta$ -karoteen op luteotrofiëse hormoon (LH)	5
2.1.4 Korrelasie van $\beta$ -karoteen met cholesterol en vitamien E (vit E)	5
2.1.5 Bronne van $\beta$ -karoteen	5
2.1.6 Bloedvlakke van $\beta$ -karoteen	6
2.1.7 Faktore wat bloedvlakke beïnvloed	7
2.1.8 Effek van $\beta$ -karoteen op sekere vrugbaarheidsindekse	8
2.1.9 Effek van $\beta$ -karoteen op uterine proteïen sekresie.	8
2.1.10 Die effek van $\beta$ -karoteen op dragtigheidstempo tydens embrio oorplasing	9
<b>2.2 SELENIUM</b>	<b>9</b>
2.2.1 Algemeen	9
2.2.2 Siektes wat ontstaan as gevolg van selenium tekorte.	10
2.2.3 Toksisiteit	11
2.2.4 Bronne van selenium	11
2.2.5 Dosisse en bloedvlakke	11
2.2.6 Gluthation peroksiedase (GSH-Px) as indikator vir die liggaam se Se status	11
2.2.7 Spesifieke effekte van selenium op die geslagstelsel	12
2.2.8 Effek van selenium op karotenoïde	13
<b>HOOFSTUK 3 METODE EN MATERIAAL</b>	<b>14</b>
<b>3.1 SKENKERS</b>	<b>14</b>
3.1.1 Hantering en voeding	14
3.1.2 Sinkronisasie en superovulasie	14
3.1.3 Inseminasie	14
3.1.4 Spoeling	15
3.1.5 Embrio evaluering	15
<b>3.2 ONTVANGERS</b>	<b>15</b>
3.2.2 Voeding	16
3.2.3 Sinkronisasie van die ontvangers	17
3.2.4 Ontvanger-skenker sinkronisasie	18
3.2.5 Oorplasingprosedures	18
<b>3.3 BLOEDMONSTERS EN PLASMAPARAMETERS</b>	<b>19</b>
3.3.1 Trek en hantering van die bloedmonsters	19
3.3.2 RBS GSH-Px bepalings	19
3.3.3 Progesteron bepalings	20
3.3.4 $\beta$ -Karoteen bepalings	20



3.3.5 Vitamien E bepalings	20
3.3.6 Vitamien A bepalings	20
<b>3.4 DATA-VERWERKING</b>	<b>20</b>
<b>HOOFSTUK 4 RESULTATE</b>	<b>21</b>
<b>4.1 SELENIUM</b>	<b>21</b>
4.1.1 Rooibloedsel glutathion peroksidase aktiwiteit en selenium toediening	21
4.1.2 RBS GSH-Px aktiwiteit van die ontvangers binne groepsverband	22
4.1.3 Die effek van $\beta$ -karoteen toediening op RBS GSH-Px aktiwiteit	23
<b>4.2 <math>\beta</math>-KAROTEEN</b>	<b>23</b>
4.2.1 $\beta$ -Karoteen plasmavlakke	23
4.2.2 $\beta$ -Karoteen plasmavlakke van ontvangers binne groepsverband	24
4.2.3 Die effek van Se/vit E toediening op $\beta$ -karoteen plasmavlakke	25
<b>4.3 VITAMIEN E (<math>\alpha</math>-TOCOFEROL)</b>	<b>26</b>
4.3.1 $\alpha$ -Tocoferol plasmavlakke (algemeen)	26
4.3.2 $\alpha$ -Tocoferol plasmavlakke van die verskillende groepe	27
<b>4.4 VITAMIEN A (RETINOL)</b>	<b>27</b>
4.4.1 Retinol plasmavlakke (algemeen)	27
4.4.2 Retinol plasmavlakke van die verskillende groepe	28
<b>4.5 DRAGTIGHEIDSTEMPO</b>	<b>30</b>
4.5.1 Die effek van Se op dragtigheidstempo	30
4.5.2 Die effek van $\beta$ -karoteen op dragtigheid	32
<b>4.6 PROGESTEROON</b>	<b>35</b>
<b>4.6.1 Progesteron plasmavlakke ten opsigte van sinkronisasie groepe</b>	<b>35</b>
4.6.2 Progesteronvlakke en groepsverband	36
4.6.3 Progesteron plasmavlakke en ander parameters	37
<b>4.7 KONDISIE</b>	<b>38</b>
4.7.1 Kondisie en kondisietoename van die ontvangers	38
<b>4.8 ESTRUSLENGTE EN TYDPERK VANAF PROSTAGLANDIEN-TOEDIENING TOT ESTRUS</b>	<b>38</b>
4.8.1 Estruslengte en die tydsduur vanaf prostaglandien-toediening tot estrus binne groepsverband	38
4.8.2 Estruslengte en die tydsduur vanaf prostaglandien-toediening tot estrus buite groepsverband	39
<b>4.9 CORPUS LUTEUM EVALUASIE</b>	<b>39</b>
<b>HOOFSTUK 5 BESPREKING</b>	<b>40</b>



<b>5.1 BLOEDVLAKKE</b>	<b>40</b>
5.1.1 RBS GSH-Px aktiwiteit	40
5.1.2 $\beta$ -Karoteen plasmavlakke	40
5.1.3 Retinol plasmavlakke	41
5.1.4 $\alpha$ -Tocoferol plasmavlakke	41
<b>5.2 ESTRUSLENGTE EN TYDSDUUR TUSSEN PROSTAGLANDIEN-TOEDIENING EN ESTRUS</b>	<b>42</b>
<b>5.3 CORPORA LUTEA</b>	<b>42</b>
<b>5.4 DRAGTIGHEIDSTEMPO</b>	<b>42</b>
5.4.1 Selenium en dragtigheid	42
5.4.2 $\beta$ -Karoteen en dragtigheid	43
<b>5.5 PROGESTEROON</b>	<b>44</b>
<b>5.6 GEVOLGTREKKINGS</b>	<b>44</b>
<b>HOOFSTUK 6 OPSOMMING</b>	<b>46</b>
<b>CHAPTER 6 SUMMARY</b>	<b>48</b>
<b>VERWYSINGS</b>	<b>50</b>

## LYS VAN TABELLE

Tabel 1: $\beta$ -Karoteen inhoud van verskillende voedingsgewasse <sup>84</sup>	6
Tabel 2: Die effek van berging by omgewingstemperatuur op $\beta$ -karoteen in alfalfa hooi <sup>84</sup>	6
Tabel 3: Literatuuroorsig van die invloed van $\beta$ -karoteen byvoeding op verskeie vrugbaarheidsindekse of parameters	9
Tabel 4: $\beta$ -Karoteenplasmavlakke en dragtigheidstempo tydens embrioorplantings	9
Tabel 5: Die rastipes van die ontvangers in elke toetsgroep.	16
Tabel 6: Gemiddelde RBS GSH-Px aktiwiteit van die 4 toetsgroepe (EE / $1 \times 10^{10}$ RBS)	22
Tabel 7: Plasma $\beta$ -karoteen waardes van al die ontvangers wat $\beta$ -karoteen ontvang het teenoor dié wat niks ontvang het nie ( $\mu\text{mol}/\ell$ )	24
Tabel 8: Gemiddelde plasma $\beta$ -karoteen waardes van die 4 toetsgroepe ( $\mu\text{mol}/\ell$ )	25
Tabel 9: Die gemiddelde $\alpha$ -tocoferol plasmavlakke van die vier toetsgroepe ( $\mu\text{mol}/\ell$ )	27
Tabel 10: Statistiese korrelasies tussen retinol plasmavlak en ander parameters	28
Tabel 11: Gemiddelde retinol plasmavlak van die vier toetsgroepe ( $\mu\text{mol}/\ell$ )	29
Tabel 12: Dragtigheidstempo van die vier toetsgroepe	30
Tabel 13: RBS GSH-Px aktiwiteit van ontvangers wat embrios ontvang het teenoor dié wat geen embrios ontvang het nie binne elke groep (EE / $1 \times 10^{10}$ RBS)	31
Tabel 14: RBS GSH-Px aktiwiteit van dragtige ontvangers teenoor nie-dragtige ontvangers wat embrios ontvang het binne elke groep (EE / $1 \times 10^{10}$ RBS)	31
Tabel 15: RBS GSH-Px aktiwiteit van ontvangers wat embrios ontvang het teenoor ontvangers wat geen embrios ontvang het nie (EE / $1 \times 10^{10}$ RBS)	31
Tabel 16: RBS GSH-Px aktiwiteit van die dragtige ontvangers teenoor nie-dragtige ontvangers wat almal embrios ontvang het (EE / $1 \times 10^{10}$ RBS)	32
Tabel 17: Plasma $\beta$ -karoteen waardes binne groepe van ontvangers wat embrios ontvang het teenoor dié wat geen embrios ontvang het nie ( $\mu\text{mol}/\ell$ )	33
Tabel 18: Plasma $\beta$ -karoteen waardes binne groepe van dragtige ontvangers teenoor nie-dragtige ontvangers wat embrios ontvang het ( $\mu\text{mol}/\ell$ )	33
Tabel 19: $\beta$ -Karoteen waardes van ontvangers wat embrios ontvang het teenoor dié wat geen embrios ontvang het nie ( $\mu\text{mol}/\ell$ )	34
Tabel 20: $\beta$ -Karoteen bloedvlakke: Dragtige teenoor nie-dragtige ontvangers van dié wat embrios ontvang het ( $\mu\text{mol}/\ell$ )	35
Tabel 21: Gemiddelde plasma progesteron waardes van die 4 sinkronisasiesgroepe (nmol/ $\ell$ )	36

Tabel 22: Gemiddelde plasma progesteron waardes van die 4 toetsgroepe soos verdeel in sinkronisasiegroepe (nmol/l)	36
Tabel 23: Gemiddelde plasma progesteron waardes van die 4 toetsgroepe (nmol/l)	37
Tabel 24: Die gemiddelde plasma progesteron waardes van die dragtige teenoor die nie-dragtige ontvangers (nmol/l)	37
Tabel 25: Gemiddelde kondisietoename en kondisie van die vier toetsgroepe tydens embryo-oorplasing	38
Tabel 26: Die gemiddelde tydsduur tussen prostaglandien-toediening en estrus en die gemiddelde estruslengte in die vier toetsgroepe (uur)	39



## LYS VAN FIGURE

Fig. 1: Sinkronisasieprogram van skenkers en ontvangers vir elkeen van die spoeldae	18
Fig. 2: Embrio-oorplasingspistolet	19
Fig. 3: Histogram van die verspreiding van die RBS GSH-Px aktiwiteit van al die ontvangers (EE / $1 \times 10^{10}$ RBS)	21
Fig. 4: Bek-en-snorgrafiek van die RBS GSH-Px aktiwiteit van die vier toetsgroepe (EE / $1 \times 10^{10}$ RBS)	23
Fig. 5: Histogram van plasma $\beta$ -karoteen-waardes van al die ontvangers ( $\mu\text{mol}/\ell$ )	24
Fig. 6: Bek-en-snorgrafiek van die plasma $\beta$ -karoteen waardes van die vier toetsgroepe ( $\mu\text{mol}/\ell$ )	25
Fig. 7: Histogram van die plasma $\alpha$ -tocoferol waardes van al die ontvangers ( $\mu\text{mol}/\ell$ )	26
Fig. 8: Bek-en-snorgrafiek van die $\alpha$ -tocoferol plasmavlakke van die vier toetsgroepe ( $\mu\text{mol}/\ell$ )	27
Fig. 9: Histogram van die retinol plasmavlakke van al die ontvangers ( $\mu\text{mol}/\ell$ )	28
Fig. 10: Bek-en-snorgrafiek van die retinol plasmavlakke van die vier toetsgroepe ( $\mu\text{mol}/\ell$ )	29
Fig. 11: Grafiese voorstelling van RBS GSH-Px, (EE / $1 \times 10^{10}$ RBS), teenoor retinol plasmavlakke, ( $\mu\text{mol}/\ell$ ) van die 4 toetsgroepe	30
Fig. 12: Bek-en-snorgrafiek van die RBS GSH-Px aktiwiteit van die dragtige ontvangers teenoor die nie-dragtige ontvangers (EE / $1 \times 10^{10}$ RBS)	32
Fig. 13: Staafdiagram van plasma $\beta$ -karoteen-waardes binne groepe van dragtige ontvangers teenoor nie-dragtige ontvangers wat embrios ontvang het ( $\mu\text{mol}/\ell$ )	33
Fig. 14: Bek-en-snorgrafiek van die $\beta$ -karoteen konsentrasie van die ontvangers wat embrios ontvang het teenoor dié wat geen embrios ontvang het nie.	34
Fig. 15: Bek-en-snorgrafiek van die $\beta$ -karoteen waardes van die dragtige teenoor die nie-dragtige ontvangers	35
Fig. 16: Bek-en-snorgrafiek van die plasma progesteron waardes van die vier toetsgroepe ( $\text{nmol}/\ell$ )	37

## LYS VAN AFKORTINGS

RBS GSH-Px	Rooibloedsel glutathion peroksidase
GSH-Px	Glutathion peroksidase
EE	Ensiem eenhede
PG	Prostaglandiene
LH	Luteotrofiese Hormoon
KI	Kunsmatige Inseminasie
FSH-P	Vark Follikulêre Stimulerende Hormoon
P4	Progesteron
OVI	Onderstepoort Veterinêre Instituut
F1	Eerste generasie kruisteling
F2	Tweede generasie kruisteling

## HOOFSTUK 1 INLEIDING

Vandat Moore<sup>72</sup> in 1930 die omskakeling van  $\beta$ -karoteen na vitamien A (vit A) in die intestinale epiteel geraporteer het, is  $\beta$ -karoteen slegs as 'n voorloper van vitamien A beskou. Die teenwoordigheid daarvan in 'n rantsoen was as minder belangrik gesien indien daar voldoende voorafvervaardigde vit A in die rantsoen was. Duitse werkers<sup>2, 59, 61, 62</sup> het in 1976 hernude aandag op die invloed van  $\beta$ -karoteen op vrugbaarheid in die bees gevestig. Verhoogde vrugbaarheid is in beeste met 'n bewese  $\beta$ -karoteen tekort maar voldoende vit A, na  $\beta$ -karoteen toevoeging, gevind, terwyl die volgende kliniese tekens van  $\beta$ -karoteen tekorte beskryf is:

1. vertraagde involusie,
2. vertraagde aanvang van ovariumfunksie na geboorte,
3. swak eksterne hitte tekens,
4. vertraagde ovulasie na die begin van estrus,
5. klein corpora lutea,
6. progesteronvlakke wat stadiger styg na estrus,
7. verhoogde embrionale afsterwing tussen Dag 37 en 45 en
8. aborsies tussen die 18<sup>e</sup> en 20<sup>e</sup> week van dragtigheid.

'n Eiesoortige funksie vir  $\beta$ -karoteen is deur hierdie werkers voorgestel aangesien slegs  $\beta$ -karoteen maar geen vitamien A in die corpus luteum gevind kon word nie. Soortgelyke proewe is deur ander werkers gedoen maar die resultate was in meeste gevalle nie in ooreenstemming hiermee nie<sup>12,14,50,56,65,115</sup>. Die teenwoordigheid van vitamien A in die follikulêre vloeistof<sup>21</sup> en corpus luteum<sup>21</sup> asook die teenwoordigheid van karoteensplitsende ensieme in die corpus luteum<sup>99</sup> is intussen bewys maar 'n oordragingsstelsel van vitamien A na die follikel en corpus luteum is nog nie beskryf nie.

Vitamien E en selenium se effekte op die geslagstelsel is hoofsaaklik beskryf as die post partale herstel van die uterus<sup>42, 43</sup>. Dit sluit vinniger meganiese en fisiologiese involusie<sup>43</sup> asook 'n verbeterde immuunstelsel in<sup>9</sup>. Ander parameters wat verband hou hiermee soos verhoogde konsepsie per eerste dekking<sup>66</sup>, verkorte kalfintervalle<sup>25</sup>, minder dekkings per konsepsie en minder dae oop<sup>25</sup> is beskryf terwyl geen verbetering van hierdie parameters ook in ander gevalle gevind is<sup>68</sup>. Dit is gevind dat die toediening van vitamien E en selenium die konsentrasie van vitamien A in die plasma, en tot 'n mindere mate in die lewer verhoog<sup>17</sup>. Die teenwoordigheid van selenium in die ovarium is beskryf<sup>18</sup> maar gee aanleiding tot verdere vrae oor interaksie tussen vitamien E, selenium en  $\beta$ -karoteen ten opsigte van vitamien A in die follikel en corpus luteum.

Vir maksimale konsepsie gedurende embryo-oorplasing is corpus luteum grootte en progesteron produksie een van die faktore in die ontvanger waarna gekyk word. 'n Funksionele corpus luteum is essensieel vir dragtigheid<sup>36,78</sup>. Remsen<sup>81</sup> en Genazzani<sup>36</sup> het betekenisvolle ooreenkomste tussen progesteronvlakke en konsepsietempo tydens embryo-oorplasing gekry.  $\beta$ -Karoteen het 'n effek om die corpus luteum te vergroot maar grootte met betrekking tot progesteron produksie, is nie 'n betroubare manier gevind om corpus luteum funksie te evalueer nie<sup>27,81</sup>. Uterus proteïne word deur beide progesteron en  $\beta$ -karoteen verhoog in die begin van dragtigheid wat veral belangrik is tot en met inplantering<sup>8,22</sup>. Progesteron stimuleer ook plasentale ontwikkeling gedurende die vroeë stadium<sup>8</sup>. Indien  $\beta$ -karoteen 'n verhoogde progesteron produksie tot gevolg sou hê kan dit moontlik deur hierdie roete help om konsepsietempo te verhoog. Daar is redelik verskille in opinie of  $\beta$ -karoteen alleen 'n verhoging in progesteron produksie te weeg kan bring<sup>12,77,79,115</sup>; *in vitro* is dit wel waargeneem<sup>37,78,106</sup>. In hierdie studie sal na die direkte en indirekte effekte van  $\beta$ -karoteen op progesteron en dragtigheid gekyk word.

Effekte van  $\beta$ -karoteen, selenium, vitamien E en vitamien A alleen of die interaksies op mekaar met gevolglike effekte op ander vrugbaarheidsindekse kan moontlik lei tot verhoogde vrugbaarheid en sodoende verhoogde konsepsies tydens embrio oorplasings. Die doel van hierdie studie gaan wees om in 'n embrio-oorplasings program met die toediening  $\beta$ -karoteen en selenium die volgende te bepaal:

1. Konsepsietempo
2. Onderlinge interaksies op mekaar
3. Effekte van selenium en  $\beta$ -karoteen op
  - a)  $\alpha$ -Tocoferol
  - b) Retinol
  - c) Progesteron
  - d) Estruslengt
  - e) Tydperk van prostaglandien-toediening tot estrus
  - f) Corpus luteum grootte

## HOOFSTUK 2 LITERATUUROORSIG

### 2.1 $\beta$ -KAROTEEN

#### 2.1.1 Metode van werking

##### a) Algemeen

$\beta$ -Karoteen is 'n plantpigment wat in die intestinale mukosale, lewer en niere<sup>77</sup>, die uier<sup>16</sup>, die corpus luteum<sup>33, 99</sup> en follikel<sup>83</sup> na vit A omgeskakel word deur 'n karoteensplitsende ensiem, karotenase. Dit is die aktiwiteit van hierdie ensiem in die dunderm wat verantwoordelik is vir die vit A vlakke in die bloed. Die ensiemaktiwiteite van karotenase in die ander organe voorsien in hulle eie lokale behoeftes<sup>99</sup>. Daar bestaan 'n groot variasie tussen die verskillende spesies betreffende hul vermoë om  $\beta$ -karoteen na vit A om te skakel. In dié verband is melkkoeie redelik oneffektief en benodig 1 mg  $\beta$ -karoteen om 400 I.E. vit A te lewer<sup>104</sup>.

##### b) Ovaria

Die  $\beta$ -karoteen wat nie in die dunderm mukosa na vit A omgeskakel word nie, word deur die mukosa selle opgeneem en gebonde aan chilomikrons na die lewer vervoer. Hier word dit oorgedra na lipoproteïne wat dit verder deur die liggaam verprei. In die bees word sowat 82% van die  $\beta$ -karoteen deur middel van hoë digtheid lipoproteïen (HDL), 12% deur lae digtheid lipoproteïne (LDL) en sowat 0,3% deur baie lae digtheid lipoproteïne (VLDL) in die bloedplasma gedra<sup>88</sup>.

Die follikulêre bloedgrens wat die follikel omring dien as 'n filter wat verhoed dat sekere bloedkomponente die follikel binnedring<sup>97</sup>. Dit verhoed dat molekules met 'n molekulêre gewig hoër as 850,000 Daltons soos LDL en VLDL die follikel binnedring<sup>50,97</sup>.  $\beta$ -Karoteen, vitamien E (vit E) en cholesterol word deur HDL vervoer en sal dus die follikel binnedring.  $\beta$ -Karoteen konsentrasies binne die follikel beloop ongeveer 30 - 40% van die  $\beta$ -karoteen plasma konsentrasie<sup>21,89</sup>. Die teenwoordigheid van vit A in die follikel is nog nie verbind met 'n oordragingsstelsel nie<sup>49</sup>. Daar vind wel verdeling van  $\beta$ -karoteen na retinol en retinal binne die follikel plaas<sup>21,33,99</sup>. Sklan<sup>99</sup> het die teenwoordigheid van karotenase in die corpus luteum bewys asook die verhoogde aktiwiteit daarvan gedurende midsiklus. Die verhoogde aktiwiteit van karotenase gedurende dié tyd lei waarskynlik tot 'n verhoogde vit A produksie wanneer die luteale selle die meeste progesteron produseer<sup>106</sup> gedurende die estrussiklus.  $\beta$ -Karoteen dien vermoedelik as 'n stoor en voorganger vir vit A binne die follikel en corpus luteum<sup>54,91</sup>. Die sintese van die proteolitiese ensieme in die granulosa selle wat verantwoordelik is vir die opbreek van die follikulêre membraan tydens ovulasie word deur vit A beïnvloed<sup>54,90</sup>. 'n Tekort aan  $\beta$ -karoteen en dus van vit A in die follikel kan tot follikulêre siste lei<sup>90</sup>.

##### c) Antioksidant

$\beta$ -Karoteen is soos vit E vetoplosbaar en werk as antioksidant in sel-membrane (ook in lisosome)<sup>64</sup>. As antioksidant werk dit veral by 'n lae suurstofdruk<sup>64</sup>. Dit is die kragtigste opraper van enkel "singlet" suurstof molekules<sup>10,64</sup>. In muise

verhoog dit die timus gewig, verhoog weefseloerplantingsverwerping en inhibeer virus-gestimuleerde gewasse. In hierdie spesie is daar ook 'n matige dog konstante verhoging in T en B limfosiet funksies waargeneem. Dit dui op 'n immuun-verhogende kapasiteit van  $\beta$ -karoteen<sup>10</sup>.

O'Fallon<sup>75</sup> en Chew<sup>21</sup> het gevind dat  $\beta$ -karoteen in die luteale selle nou gebonde is aan die nukleus, mitochondria, mikrosome en die endoplasmitiese retikulum. Dit kan verbind word met sy antioksidatiewe funksie<sup>10,23,64</sup> of met 'n eie spesifieke rol. Talavera<sup>106</sup> ondersteun laasgenoemde feit omdat hy in sy proef waar corpus luteum selle *in vitro* aan  $\beta$ -karoteen, retinol en retinoïen suur blootgestel was, gevind het dat die selle met  $\beta$ -karoteen veel meer progesteron geproduseer het.

## 2.1.2 Effek van $\beta$ -karoteen op steroïed hormone

### a) Progesteron

Die granulosa selle van die corpus luteum is afhanklik van cholesterol vir progesteron produksie<sup>76</sup>. Soos reeds genoem, word  $\beta$ -karoteen binne die corpus luteum na vit A omgeskakel. Hierdie vit A is essensieel vir die produksie van die cholesterol-syketting splitsende ensiem kompleks (CSCC ensiem)<sup>52</sup>. Dié ensiem is 'n beslissende faktor in progesteron sintese<sup>54</sup>.

Die effek van  $\beta$ -karoteen op progesteron produksie deur die corpus luteum het verskeie teenstrydighede in verskillende proewe opgelewer. Lotthamer<sup>62</sup> het gevind dat koeie met 'n  $\beta$ -karoteen tekort se progesteron waardes gedurende die estrus siklus stadiger styg en laer waardes bereik as koeie met voldoende vlakke. Net so het Ahlswede<sup>2</sup> betekenisvolle laer progesteron konsentrasies in die corpora lutea van verse gekry met 'n  $\beta$ -karoteen tekort. Graeves-Hoagland<sup>37</sup> het *in vitro* ook 'n seisoenale neiging ten opsigte van progesteron produksie gekry. Corpora lutea wat in die winter gekollekteer was van diere met 'n lae plasma  $\beta$ -karoteen waarde het 'n positiewe verwantskap tussen progesteron produksie en plasma  $\beta$ -karoteen waardes gewys. Hierdie verwantskap het verdwyn waar corpora lutea in die somer van diere met 'n voldoende plasma  $\beta$ -karoteen waarde gekollekteer is.

Chorioniese Gonadotropien (hCG) uitdaging van die corpus luteum selle van  $\beta$ -karoteen-behandelde teenoor onbehandelde diere het betekenisvolle hoër progesteron waardes in die behandelde groep gegee in 'n proef gedoen deur Pethes *et al*<sup>78</sup>. Die  $\beta$ -karoteen konsentrasie van die behandelde groep se corpus luteum was voor die uitdaging met hCG baie hoër as dié van die onbehandelde groep terwyl die progesteron inhoud dieselfde was in beide groepe. Die corpus luteums hoog in  $\beta$ -karoteen het dus oor 'n groter potensiaal beskik om progesteron te produseer. Talavera<sup>106</sup> het *in vitro* bewys dat vark corpus luteum selle in die teenwoordigheid van  $\beta$ -karoteen meer progesteron met luteotrofiëse hormoon (LH) stimulasie produseer as die luteale selle wat in die teenwoordigheid van retinoïen suur en retinol geïnkubeer is. Hierdie effek van hCG kon egter nie deur Bindas<sup>12</sup> *in vivo* herhaal word nie. Binne die eerste 5 uur na LH toediening kon hy slegs subtiele progesteron verhogings, sonder om onderskeiding tussen  $\beta$ -karoteen behandelde en onbehandelde diere te tref, vind.

In teenstelling met bogenoemde kon Ascarelli<sup>5</sup> geen verhoging in progesteron kry met 'n verhoogde  $\beta$ -karoteen aanvulling nie.

### b) Estrogeen en testosteroon

Estradiol-17 $\beta$  en testosteroon was volgens Meinecke<sup>69</sup> die enigste steroïed hormone wat deur 'n algehele  $\beta$ -karoteen tekort in sy proef beïnvloed was. Hier



was die estradiol-17 $\beta$  en die testosteroon se bloedvlakke hoër in die  $\beta$ -karoteen-onttrekkingfase as in die toevoegingfase. Dit was egter nie betekenisvol nie. Hierdie bevinding sluit aan by Lotthamer<sup>62</sup> wat gevind het dat sommige verse met 'n  $\beta$ -karoteen tekort eksterne hitte tekens (geswolle vulva, vogtige rooi vestibulum met 'n ligte slym afskeiding) toon in die diestrus tydperk. Jackson<sup>50</sup> het egter gevind dat koeie aan die laer end van  $\beta$ -karoteen bloedvlakke se estrogeen vlakke onderdruk word met gepaardgaande simptome.

### 2.1.3 Effek van $\beta$ -karoteen op luteotrofiese hormoon (LH)

Volgens Lotthamer<sup>62</sup> wil dit voorkom of  $\beta$ -karoteen geen effek op die hoogte van die LH piek tydens ovulasie het nie. Hy reken dat in diere met  $\beta$ -karoteen tekorte, die tydperk van LH piek tot ovulasie verleng word. Wang<sup>115</sup> het egter gevind dat, na die 2de prostaglandien F<sub>2</sub> $\alpha$  (PG) toediening in 'n sinkronisasie program, die tydsduur van PG tot estrus en PG tot LH piek verleng word in  $\beta$ -karoteen-behandelde diere teenoor onbehandelde diere. Die duur van die LH piek en ovulasie blyk egter dieselfde te wees.

### 2.1.4 Korrelasie van $\beta$ -karoteen met cholesterol en vitamien E (vit E)

Daar bestaan 'n betekenisvolle positiewe korrelasie tussen plasma  $\beta$ -karoteen en cholesterol<sup>5,31,69,85</sup>. Ascarelli<sup>5</sup>, Folman<sup>31</sup> en Meinecke<sup>69</sup> het, afgesien van die duidelike korrelasie tussen  $\beta$ -karoteen en cholesterol, ook bewys dat tocoferol verhoog word met  $\beta$ -karoteen voeding. Ascarelli<sup>5</sup> het 'n hoër korrelasie gevind tussen tocoferol en cholesterol as tussen  $\beta$ -karoteen en cholesterol.

Daar is aanduidings dat die hoë korrelasie van cholesterol en serum  $\beta$ -karoteen ( $r = 0,5 - 0,7$ ) met die hoë oorerflikheid van serum cholesterol ( $r = 0,5 - 0,7$ ) verbind kan word<sup>85</sup>. Die moontlikheid bestaan dus dat die opname van  $\beta$ -karoteen geneties beïnvloed kan word<sup>85</sup>. Dit kan 'n rede wees hoekom diere verskillend op  $\beta$ -karoteen reageer.

### 2.1.5 Bronne van $\beta$ -karoteen

Die  $\beta$ -karoteen inhoud van verskeie voedingsgewasse word in Tabel 1 aangedui<sup>84</sup>. Vars groen ruvoere is oor die algemeen kragtige  $\beta$ -karoteen bronne. Droë ruvoere se  $\beta$ -karoteen inhoud wissel van swak tot uitstaande afhangende van die soort gewas, stadium van sny en metode van prosesering<sup>98</sup>. In hooie daal die  $\beta$ -karoteeninhoud konstant tydens berging (Tabel 2).  $\beta$ -Karoteen word vinnig in die teenwoordigheid van vog, hitte en suur afgebreek<sup>74,84</sup>. Dit veroorsaak dat kuilvoere 'n wisselende hoeveelheid  $\beta$ -karoteen bevat<sup>84</sup>. Tog is daar verskille tussen gewasse, so byvoorbeeld word lusern kuilvoer as 'n redelike goeie, en mielie kuilvoer as 'n swak, bron van  $\beta$ -karoteen beskou. Grane bevat op hulle beurt feitlik geen  $\beta$ -karoteen nie<sup>84</sup>.



**Tabel 1:  $\beta$ -Karoteen inhoud van verskillende voedingsgewasse<sup>84</sup>**

Tipe voer	Inhoud (mg/kg) Gemiddeld	Speling
Groen ruvoer		
Alfalfa	40,6	14,9 - 79,9
Klawer	57,9	15,5 - 113,9
Swenkgras	68,9	16,3 - 128,6
Grane		
Mielies	0,7	0,0 - 2,7
Sorghum	0,1	0,0 - 0,5
Hawer	0,0	0,0
Kuilvoere		
Alfalfa	18,3	0,1 - 60,0
Mielies	3,2	1,6 - 4,7
Droë ruvoere		
Alfalfa hooi	12,5	0,0 - 144,5
Klawer hooi	13,8	0,2 - 67,1

**Tabel 2: Die effek van berging by omgewingstemperatuur op  $\beta$ -karoteen in alfalfa hooi<sup>84</sup>**

Weke gestoor	$\beta$ -Karoteen inhoud (mg/kg)	$\beta$ -Karoteen verlies (%)
0	5,0	0
4	3,6	28
8	3,0	40

## 2.1.6 Bloedvlakke van $\beta$ -karoteen

### a) Normale vlakke

Daar is 'n verskil in opinie wat die minimum waarde behoort te wees waarby reproduksie nie geaffekteer gaan word nie. Fiesecke<sup>32</sup> reken dat 'n plasmavlakke bo 0,3 mg/100 ml voldoende vir reproduksie is. Ascarelli<sup>5</sup> reken dat vlakke so laag as 0,15 mg/100 ml voldoende is vir reproduksie en dat 'n verhoogde vrugbaarheid eers intree wanneer diere met 'n bloedvlakke van 0,05 mg/100 ml met  $\beta$ -karoteen behandel word. Lotthamer<sup>62</sup> het verlaagde vrugbaarheid begin kry met plasmavlakke onder 0,02 mg/100ml. In proewe waarin stygings in plasmawaardes van 0,2-0,6 mg/100 ml teweeggebring was, is geen verhoging in vrugbaarheidsindekse waargeneem nie<sup>28, 56, 115</sup>.

### b) Toksisiteit

'n Onderdrukkende of toksiese effek kan op vrugbaarheid bespeur word wanneer  $\beta$ -karoteen in oormaat toegedien word. Folman<sup>31</sup> het gevind dat hoë plasmavlakke van  $\beta$ -karoteen positief gekorreleer is met onvrugbaarheid. Talavera<sup>106</sup> het gevind dat die produksie van progesteron deur vark corpus luteum selle dramaties afneem na bereiking van piek vlakke met  $\beta$ -karoteen toediening as die dosis van toediening verder verhoog word. Graves-Hoagland<sup>38</sup> het dieselfde negatiewe of



toksiese effekte ten opsigte van progesteron produksie in bees corpus luteum selle gevind waar dit aan 'n oormaat  $\beta$ -karoteen blootgestel was.

### c) Doseringsvlakke van $\beta$ -karoteen

Daar is 'n redelike ooreenstemming aangaande die aanbevole dosis vir  $\beta$ -karoteen toediening deur verskillende werkers. Bonsebiante<sup>14</sup> reken dat die orale dosis van  $\beta$ -karoteen 30 mg/100 kg, met 'n minimum rantsoeninhoud van 12 tot 15 mg per kg (droë basis), behoort te wees. Lotthamer<sup>62</sup> beveel 'n inname van 100 mg per bees per dag aan met 'n addisionele 20 mg per liter melk wat geproduseer word. 'n Melkkoei wat 25 kg melk lewer, benodig dus 600 mg  $\beta$ -karoteen per dag. 'n Aanbevole minimum vlak vir volwasse diere is 300 mg per dag en vir verse 60-80 mg per dag<sup>62</sup>.

## 2.1.7 Faktore wat bloedvlakke beïnvloed

### a) Halflewe

Meinecke<sup>69</sup> het gevind dat  $\beta$ -karoteen plasmavlakke 'n piek 24 uur na parenterale toediening bereik. Hierna daal dit konstant tot en met die volgende toediening. In dié geval het dit 'n halflewe van  $\pm 4$  uur. Normmaalweg met orale inname kan die liggaam voldoende  $\beta$ -karoteen op 'n slag inneem vir 20 tot 28 dae waarna 'n volgende inname nodig sal wees<sup>14</sup>. Na algehele onttrekking daal die  $\beta$ -karoteen vlakke in die liggaam na minimum vlakke binne 6 weke<sup>1,69,85</sup>. Wanneer orale toediening na algehele onttrekking begin, begin die plasmavlakke binne 3 dae betekenisvol te styg<sup>84</sup>. Dit is 'n aanduiding dat  $\beta$ -karoteen in die bees 'n baie sensitiewe indikator vir karoteen inname is<sup>84</sup>.

### b) Seisoene

As gevolg van die kort halflewe van  $\beta$ -karoteen in die sisteem gaan seisoene 'n groot effek hê op die plasma  $\beta$ -karoteenvlak. In die verband word tekorte hoofsaaklik in die wintermaande gevind wanneer daar 'n ernstige tekort aan groen ruvoer is<sup>37,38,47</sup>.

### c) Fisiologiese toestande

Fisiologiese toestande wat 'n rol speel op die  $\beta$ -karoteen bloedvlakke is o.a. partus, dragtigheid en laktasie. Bremel *et al*<sup>7</sup> het getoon dat  $\beta$ -karoteen plasmavlakke die hoogste onmiddelik voor partus, en die laagste 3 tot 6 weke na partus is. Ascarelli<sup>5</sup> het soortgelyk die laagste bloedvlakke 4 tot 5 weke post partum gevind. Lebeda *et al*<sup>57</sup> het gevind dat koeie in vroeë laktasie sowel as koeie in laat laktasie (gevorderde dragtigheid) se plasma vlakke laer is as dié van koeie in hulle midlaktasie onder dieselfde omstandighede.

### d) Temperatuur

Lae temperature het in 'n proef deur Bonsebiante<sup>14</sup> 'n betekenisvolle verlaging in plasma  $\beta$ -karoteen veroorsaak. Die rede hiervoor kan die effek van koue op die tiroïdklier wees wat die metabolisme van  $\beta$ -karoteen en vit A beïnvloed<sup>34</sup>.

## e) Rantsoen

Verskillende rantsoensamestellings met dieselde hoeveelheid  $\beta$ -karoteen kan verskillende bloedvlakke tot gevolg hê<sup>114</sup>. Ander stowwe in die rantsoen, wat geen voedingswaarde vir die dier het nie bv. nitrate en nitriete<sup>115</sup>, kan kompeteer met die opname van  $\beta$ -karoteen en gevolglik tot sekondêre tekorte lei.

## f) Individuele verskille

Individuele verskille binne 'n groep diere op 'n bepaalde vlak van  $\beta$ -karoteen voeding kan groot wees. Ascarelli<sup>5</sup> het in so 'n groep, na 'n byvoeding van 5 maande, bloedvlakke gekry wat wissel van 0,22mg// tot 10mg//.

### 2.1.8 Effek van $\beta$ -karoteen op sekere vrugbaarheidsindekse

In die aanvanklike werk wat deur Lotthamer<sup>62</sup> gedoen was het dit gelyk of feitlik alle vrugbaarheidsindekse deur  $\beta$ -karoteen verhoog word. Hy het die volgende vrugbaarheidsprobleme met 'n  $\beta$ -karoteen tekort verbind:

- **Verse**
  - Verlengde hittes.
  - Swak hittes.
  - Eksterne hitte tekens in di-oestrus.
  - Vertraagde ovulasies van tot 24 uur.
  - Verhoogde voorkoms van sistiese eierstokke.
  - Corpora lutea ontwikkel stadiger en onvolledig.
  - Verlaagde konsepsie na inseminasie.
  
- **Koeie**
  - Vertraagde involusie.
  - Vertraagde aanvang van ovariese funksie na partus.
  - Vertraagde ovulasie van tot 24 uur.
  - Stadige styging van progesteron na estrus.
  - Hoë tempo van embryo mortaliteit tussen Dag 37 en 45.
  - Verhoogde aborsies tusen Week 18 en 20,

Verskeie werkers wat Lotthamer se werk opgevolg het, het verskillende reaksies gekry op  $\beta$ -karoteen byvoeging. Hierdie resultate word in Tabel 3 opgesom.

Inagnemend van bogenoemde kan die volgende afleiding ten opsigte van vrugbaarheid gemaak word met  $\beta$ -karoteen aanvulling, naamlik:

1. Dit verhoog vrugbaarheid waar  $\beta$ -karoteen inname laag is<sup>5,14,63</sup>, maar nie in alle gevalle nie<sup>11,30</sup>.
2. Dit het geen effek waar inname reeds voldoende is nie<sup>14,28,56</sup>.
3. Dit het nadelige of toksiese effekte wanneer inname reeds hoog is<sup>38</sup>.

### 2.1.9 Effek van $\beta$ -karoteen op uterine proteïen sekresie

Chew *et al*<sup>22</sup> het 'n proef in jong sôe gedoen met 'n kontrole, vit A, vit A plus orale  $\beta$ -karoteen en vit A plus parenterale  $\beta$ -karoteen behandelingsgroepe. Hy kon geen verskil in die vier groepe vind ten opsigte van aantal corpora lutea, ovarium gewig, lengte van estrus siklus of plasma progesteron tot op Dag 15 van die siklus nie. Daar was geen verskil tussen die totale sekretoriese proteïene van die uterus nie alhoewel die parenterale  $\beta$ -karoteen groep die grootste hoeveelheid van elke

enkele uterus proteïene gehad het. Die effek van veranderde voeding, met of sonder vit A en  $\beta$ -karoteen, op die verandering van uterus proteïene sekresies word egter nog nie ten volle verstaan nie<sup>22</sup>. As 'n mens in ag neem dat uterus spesifieke proteïene betrokke is by die regulering van sommige aspekte van die ontwikkeling van die konseptus<sup>8</sup> kan daar 'n manier wees waarop vit A en  $\beta$ -karoteen, deur die verandering van die uterus se milieu, die embrionale oorlewing kan beïnvloed.

**Tabel 3: Literatuuroorsig van die invloed van  $\beta$ -karoteen byvoeding op verskeie vrugbaarheidsindekse en parameters**

Indeks	Negatief	Geen verskil	Positief
Sistiese follikels		1;53	
Bloed P4 vlak		53;75	
1ste dekking konsepsie		53	
Dae oop	30	1;53	12;99
Interval kalf tot KI		1;5;12;30	
Aantal KI per konsepsie	30	1;12;79	47;99
Dragtigheidstempo	30	1;107	5
Follikulêre siste		1	1
Luteale siste		1	1
Uterus involusie		1	
Metritis		1	1

### 2.1.10 Die effek van $\beta$ -karoteen op dragtigheidstempo tydens embrio oorplasing

'n Hongaarse groep<sup>105</sup> het op 'n kommersiële basis nie-chirurgiese embrio-oorplasing gedoen oor 'n tydperk van 4 maande waartydens 221 oorplasinge gedoen is. Die dragtigheidstempo het gevarieer van 0-55%. Daar was gevind dat die dragtigheidstempo saam met die plasma  $\beta$ -karoteenkonsentrasie gevarieer het. Die resultate word in Tabel 4 aangedui.

**Tabel 4:  $\beta$ -Karoteenplasmavlakke en dragtigheidstempo tydens embrio-oorplantings**

$\beta$ -Karoteen $\mu\text{g}/100 \text{ ml serum}$	Dragtigheidstempo
40 - 60	0
100 - 170	20%
250 - 400	50%

In dié studie het  $\beta$ -karoteen dus 'n dramatiese effek op die bevrugtingstempo gehad.

## 2.2 SELENIUM

### 2.2.1 Algemeen

Selenium is 'n swaar metaal wat in die liggaam 'n belangrike funksie het as antioksidant<sup>86</sup>. Dit vorm deel van verskeie ensieme waarvan glutathione peroxidase (GSH-Px) die belangrikste is<sup>86</sup>. GSH-Px bevat vier atome selenium per

molekule proteïen met 'n molekulêre massa van 88 000<sup>86</sup>. Die ensiem is 'n tripeptied wat saamgestel is uit nie-essensiële aminosure. Die meganisme waardeur Se in die ensiem geïnkorporeer word is egter nie bekend nie<sup>67</sup>. Dit funksioneer, soos ander antioksidant ensieme, hoofsaaklik intrasellulêr<sup>64</sup>. Sy belangrikste funksies is die detoksifisering van waterstof peroksied en lipied hidroperoksiedes<sup>15</sup>. Verder reduseer dit 'n hele reeks peroksiedes insluitende prostaglandien G2 wat 'n kragtige bloedplaatjie aggregator is<sup>67</sup>. As antioksidant oorvleuel sy funksie met dié van vit E sodanig dat tekorte van die een deur die ander aangevul word. Anders as GSH-Px funksioneer vit E hoofsaaklik in die selmembraan waar dit die hoof vetoplosbare antioksidant is. Dit beskerm die membraan teen lipied peroksiedases en reageer direk met verskeie oksie-radikale asook met 'enkel' suurstowwe. Ander antioksidante in die liggaam is askorbiensuur (vitamien C),  $\beta$ -karoteen, ceruloplasmien (koper), uriensuur, billirubien, katalase (yster) en superoksied dismutase (koper, sink en mangaan)<sup>64</sup>.

Selenium het positiewe effekte op die liggaam se immuunreaksie. Dit verhoog die liggaam se weerstand teen siektes deur sy positiewe effekte op die polimorfonukleêre neutrofiële en limfosiete<sup>9,15,42,55,58</sup>. Baalsrud<sup>9</sup> het gewys dat met die toediening van vit E en Se in die perd dit tot 'n beter immuunrespons, teen antigene wat voorheen vir die liggaam onbekend was, lei. Die antiliggaam titer in die diere bly langer hoër as dié in die diere wat net met een of met geen van die antioksidante behandel was nie. Moontlike redes vir die verhoogde immuunreaksie kan die volgende wees:

- ❖ Die antioksidante se effekte op die membrane en organelle van die limfosiete<sup>15</sup>.
- ❖ Die direkte werking van Se op die vernietiging van inhiberende peroksiedes wat tot 'n beter immuunreaksie lei<sup>9</sup>.
- ❖ Die verhoging van die aantal IgM produserende selle deur selenium wat tot 'n verhoging van IgM immunoglobulien lei. Laasgenoemde meganisme is nog nie heeltemal duidelik nie<sup>86</sup>.

Buck<sup>19</sup> het aangetoon dat Se by voorkeur in plasentome, ovaria, die hipofise en adrenaalklier akkumuleer. Die spesifieke rol van Se in die ovarium is egter nog nie bekend nie.

## 2.2.2 Siektes wat ontstaan as gevolg van selenium tekorte

Die volgende toestande ontstaan wanneer daar 'n tekort van of Se of van beide vit E en Se is<sup>67</sup>:

- ❖ Se tekort maar met voldoende vit E.
  - Lewer nekrose (varke)
  - Fibrose van die pankreas (hoenders)
  - Eksudatiewe diatose (pluimvee)
  - Nier degenerasie (rot)
  - Voedingsmiopatie (herkouers)
  - Mikro-angiopatie (varke, kalwers, lammers)
  - Kroperosie (kalkoene)
- ❖ Beide vit E en Se tekort in beeste.
  - Voedingsmiopatie<sup>67</sup>
  - Miodegenerasie<sup>55</sup>
  - Teruggehoue nageboortes<sup>109, 110</sup>
  - Verlaagde konsepsies<sup>25, 66</sup>
  - Swak groei<sup>55</sup>
  - Metritis<sup>43, 116</sup>
  - Sistiese eierstokke<sup>42, 116</sup>
  - Diaree in groeiende beeste<sup>116</sup>

- Mastitis<sup>101</sup>
- Verhoogde vatbaarheid vir infeksies en verlaagde immuunresponse<sup>15</sup>

Interaksies met ander minerale in die dieet kan Se se effektiwiteit beperk. Swael lê langs Se in die periodieke tabel en is baie soortgelyk aan Se betreffende hulle chemiese reaksies. 'n Oormaat swael in die dieet kan tot simptome van Se tekorte lei. Anorganiese swael kan Se se metabolisme meer beïnvloed as organiese swael. Ander metale wat simptome van Se tekorte kan veroorsaak is arseen (arseleniese suur) en ferriese yster<sup>86</sup>.

### 2.2.3 Toksisiteit

Selenium toksisiteit kom voor wanneer diere oormatige hoeveelhede inneem. Diere wat op seleniumryke grond wei of wat groot dosisse ontvang ontwikkel 'n siekte bekend as "blind staggers" of "alkali disease"<sup>3,86</sup>. Ander toksisiteit simptome waar dosisse van 25 keer dié van die normale oorskry sluit in haar verlies, afsloof van hoewe, mankheid, anemie, oormatige salivasie, tande kners, blindheid, paralise en dood<sup>3, 86</sup>.

### 2.2.4 Bronne van selenium

Die hoeveelheid Se wat in voer gevind word is geweldig wisselend en gaan van die Se inhoud van die gewasse in die rantsoen afhang. Hierdie gewasse se Se inhoud hang weer van Se inhoud van die grond waarin die gewas groei asook die alkaliniteit van die grond af. Se word redelik maklik in alkaliese grond deur groeiende plante opgeneem<sup>55</sup>.

Kragvoere wat hoog is in Se is vismeel, vleis en beenmeel, grondbone-oliekoek en sonneblomoliekoekmeel<sup>86</sup>.

### 2.2.5 Dosisse en bloedvlakke

Vit E en Se kan beide oraal of parenteraal toegedien word. Afhangende van omstandighede kan die behandeling parenteraal begin word en daarna oraal voortgesit word, of net eenmalig parenteraal byvoorbeeld voor 'n hoë risiko stadium soos voor kalwing of voor jong groeiende diere aan lente weiding blootgestel gaan word, toegedien word.

Parenterale dosisse om tekorte te voorkom in areas met bewese tekorte is 0,1 - 0,2 mg/kg elke 6 tot 8 weke<sup>64</sup>. Rondom hoë risiko tydperke soos voor kalwing kan 'n 50 mg bolus 21 dae voor partus eenmalig toegedien word<sup>73</sup>. Die aanbevole orale dosis is 0,1-0,3 dpm by die voer ingesluit. Die maksimum toleransie vir 'n bees is 2 dpm<sup>73</sup> en dosisse van 2-3 dpm kan toksies wees<sup>116</sup>. Voedingsvlakke laer as 0,05 dpm kan aanleiding gee tot vrugbaarheidsprobleme in die melkkoei<sup>46</sup>. Cortese<sup>25</sup> het dramatiese vrugbaarheidsprobleme gekry waar rantsoen vlakke onder 0,03 dpm was. In die bees word 0,05 - 0,4 µg/ml as 'n voldoende serum selenium konsentrasie beskou<sup>103</sup>.

### 2.2.6 Gluthation peroksiedase (GSH-Px) as indikator vir die liggaam se Se status

GSH-Px word as 'n indikator van die liggaam se Se status gebruik<sup>53,67</sup>. Die ensiem is baie stabiel in rooibloedselle (RBS) en die korrelasie tussen RBS GSH-Px en volbloed Se is baie hoog, naamlik  $r = 0,912^{4,108}$ . Die bepaling van GSH-Px

is makliker en eenvoudiger as dié van volbloed Se en dit verhoed die moontlikheid van eksterne kontaminasie tydens ontleding. Verder, omdat die beskermende effek van Se teen oksidatiewe beskadiging van weefsel deur GSH-Px plaasvind, is dit meer van pas om die aktiwiteit van die ensiem te bepaal as om Se se konsentrasie in bloed of weefsel te bepaal<sup>67,108</sup>. GSH-Px word in die RBS ingesluit met die vorming daarvan en sy aktiwiteit sal dus dieselfde bly vir die lengte van die leeftyd van die RBS. Gevogliks sal 'n verhoogde RBS GSH-Px eers ±30 dae na 'n skielike verhoging in Se inname waargeneem word en ooreenkomstig sal 'n daling in Se inname eers na 'n paar maande waargeneem word<sup>108</sup>. Inteenstelling hiermee styg die serum Se feitlik onmiddelik na inname en het dit 'n halflewe van ± 28 dae<sup>108</sup>. Serum GSH-Px styg vinniger as RBS GSH-Px en begin reeds te daal voor RBS GSH-Px sy maksimum aktiwiteit bereik het. In die bees is die RBS GSH-Px honderd keer hoër as dié van serum GSH-Px wat die akkurate meting van laasgenoemde moeilik maak. Verder blyk die positiewe korrelasie tussen RBS GSH-Px en serum Se te verdwyn wanneer die Se bloedvlakke baie hoog is. In skape bereik RBS GSH-Px 'n platvlak na 'n sekere serum Se konsentrasie waarna die serum Se kan aanhou styg<sup>103</sup>. Die RBS GSH-Px aktiwiteit korreleer egter goed met die serum Se konsentrasie tot op die onderste end van die toksiese grense. Daarom kan dit gebruik word om Se toksikose vas te stel<sup>103</sup>. Vir akute toksikose bepaling is lewer Se, serum Se en serum GSH-Px egter beter.

## 2.2.7 Spesifieke effekte van selenium op die geslagstelsel

### a) Effekte op die uterus

Die effek van Se en vit E op die uterus kan tweërlei wees naamlik:

- ❖ Die verhoging in kontraksies van die uterus soos aangedui deur Segerson<sup>93</sup>.
- ❖ Die teenwoordigheid van Se as Se GSH-Px in die polimorfonukleêre selle kan die dier help om die begin van metritis te keer om so uterus gesondheid te bevorder.

### b) Effek op agtergeblewe nageboortes

Trinder<sup>109</sup> en Morrow<sup>73</sup> het in verskillende proewe getoon dat waar daar 'n tekort aan Se was, die toediening van vit E en Se voor kalwing die voorkoms van agtergeblewe nageboortes drasties verminder het. Die effek van Se toediening sonder vit E was egter nie so goed soos 'n gesamentlike toediening nie. Dit is in ooreenstemming met Harrison se bevindings<sup>42</sup>. Trinder<sup>109</sup> het ook gevind dat wanneer die vit E en Se langer as sewe weke voor kalwing toegedien word, dit minder effektief ten opsigte hiervan is. In dié verband is die aanbevole tyd vir toediening drie weke voor kalwing<sup>73, 96, 109</sup>.

Segerson<sup>96</sup> het gevind dat die voorkoms van agtergeblewe nageboortes verminder word met Se toediening slegs waar Se bloedvlakke grenswaardes is, en dat dit geen effek het waar bloedvlakke voldoende is of as daar 'n algehele tekort is nie.

Ishak<sup>48</sup> en Gwazduaskas<sup>40</sup> kon geen verbeterde effek kry met addisionele Se waar diere reeds voldoende Se in die dieet ingeneem het nie.

### c) Effek op metritis

Harrison *et al*<sup>42</sup> het gevind dat die voorkoms van metritis in prepartum Se-behandelde diere laer was as in onbehandelde diere. Vit E het hier geen rol gespeel nie. Dit is ook in 'n latere studie<sup>43</sup> bevestig waar ook gevind was dat



koeie met metritis betekenisvol vinniger involeer wanneer hulle prepartum met Se behandel was teenoor onbehandelde koeie. Dit kan aan 'n verhoogde spierfunksie van die uterus toegeskryf word<sup>93</sup>.

#### **d) Effek op bevrugtingstempo**

Segerson<sup>93</sup> het 'n proef in skape gedoen waar gesuperovuleerde diere op 'n voldoende en op lae voedingspeile van vit E en Se met mekaar vergelyk was. Hieruit het geblyk dat 'n voldoende voedingsvlak saam met 'n vit E en Se surplus die meeste bevrugte eierselle gelewes het. Die resultate was soos volg:

- i. voldoende voeding met vit E en Se het 19/19 bevrugte eierselle gelewes,
- ii. voldoende voeding alleen het 17/22 gelewes,
- iii. lae voeding met vit E en Se het 5/10 gelewes, en
- iv. lae voeding alleen het 6/14 gelewes.

Voldoende energie plus proteïene is dus saam met vit E en Se belangrik vir optimale bevrugting. Die moontlike rede vir die verhoogde bevrugtingstempo is die verhoogde uterus sametrekking soos deur Harrison beskryf<sup>42</sup>.

Segerson<sup>93</sup> het die motiliteit van ooie se uterusse op 'n voldoende voeding vir 10 min tydens estrus ondersoek. Ooie met voldoende vit E en Se se uterusse het 33 kontraksies teenoor 25 in die ooie met onvoldoende vit E en Se getoon. Die aantal kontraksies in die rigting van die fallopiese buise gedurende 'n 10 minute periode was 21 vir die ooie op 'n voldoende voeding teenoor 13 in die ander groep.

#### **2.2.8 Effek van selenium op karotenoïde**

Harrison *et al*<sup>42</sup> het na parenterale toediening van Se 21 dae prepartum, gevind dat die GSH-Px plasmavlak vir ongeveer 2 dae styg, 'n plato bereik wat duur tot ongeveer 7 dae voor partus waarna dit weer skerp styg. Die rede vir die styging is onbekend veral omdat die onbehandelde groep se plasma GSH-Px vlakke nie in die ooreenstemmende tyd gestyg het nie. In dieselfde proef het die totale karotenoïde van al die groepe net voor partus gedaal. Die daling was groter in die Se behandelde groepe. 'n Moontlike rede hiervoor kan 'n verhoging in weefsel opname van  $\beta$ -karoteen wees gestimuleer deur die Se. In lammers stimuleer selenium 'n verhoging in opname van karoteen deur die lewer en die hartspier<sup>26</sup>.

## HOOFSTUK 3 METODE EN MATERIAAL

### 3.1 SKENKERS

Twintig skenker koeie wat uit 16 Herefords en 4 Simmentalers bestaan het, was gebruik. Hulle het ongeveer 16 - 18 maande van tevore gekalf en was daarna as 'n kernkudde vir kommersiële embrioskenkers gebruik.

#### 3.1.1 Hantering en voeding

Die ruvoer wat tydens die proef gebruik was, het uit 'n goeie kwaliteit *Eragrostus curvula* hooi bestaan. Dit was *ad lib* beskikbaar. Dieselfde ruvoer was die voorafgaande 10 maande vir die koeie gevoer.

Die kragvoer het 14% proteïen bevat. Elke skenker het 3kg daarvan per dag ontvang beginnende 8 dae voor superovulasie tot en met die dag van spoeling. Met die begin van die proef was die diere reeds in 'n goeie kondisie; 3,5 op 'n skaal van 1 tot 5.

Elke koei het 28 dae voor superovulasie 10 ml Vit E/Se (1500 mg vit E en 50 mg Se, Injecom E, ROCHE) en 2 ml vit ADE (500,000 I.E.) ontvang en is met albandazole (Valbazen, Smith Kline), miltsiekte entstof (Onderstepoort Veterinêre Instituut (OVI)) en lamsiekte entstof (OVI) behandel.

#### 3.1.2 Sinkronisasie en superovulasie

Die skenkers was lukraak in 4 groepe verdeel en elke groep opeenvolgend met subkutane inplanterings en intramuskulêre inspuitings van norgestomet en estradiol valeraat (Synchro-Mate B, Intervet SA) behandel. Agt dae na die begin van hierdie behandeling het die skenker 500 µg cloprostenol (Estrumate, Coopers) intramuskulêr ontvang. Op Dag 10 is die inplanting verwyder en 400 I.E. DMSG (Folligon, Intervet) intramuskulêr toegedien.

Die superovulasie program het op Dag 10 van die daarop volgende siklus begin. Vark follikulêre stimulerende hormoon (FSH-P, Centaur) is oor 'n periode van 4 dae, in dalende dosisse, 12 uurliks, intramuskulêr toegedien. Die Herefords het 'n totale dosis van 32 mg (6, 5, 3 en 2 mg twee keer daaglikse) en die Simmentalers 'n totale dosis van 42 mg (7, 6, 4 en 3 mg twee keer per dag) ontvang. Cloprostenol (Estrumate, Coopers) is in die oggend (750 µg) en in die aand (375 µg) van die derde dag van FSH-P behandeling intramuskulêr toegedien.

#### 3.1.3 Inseminasie

Die skenkers is twee keer, ±12 uur na die begin van staande hitte en weer 12 uur daarna geïnsemineer. Die inseminasie pistolette was met 'n addisionele plastiese slopie, wat tydens inseminasie net voor die serviks gebreek is, bedek. Sodoende is die oordraging van kontaminante tot in die uterus tot die minimum beperk. Die semen is by die interne os van die serviks in die caudale deel van die corpus uteri gedeponeer.



### 3.1.4 Spoeling

Spoeling is op Dag 7 van die siklus met 'n drie-rigting Franklin kateter uitgevoer. Dulbecco fosfaat-gebufferde soutoplossing (PBS) is as spoelmedium gebruik en elke horing is afsonderlik met 180 ml spoelmedium gespoel. Die gespoelde medium is in 'n gemodifiseerde skeitregter opgevang en by kamertemperatuur gelaat vir die afsak van die embryos.

### 3.1.5 Embrio evaluering

Die sediment is in 'n petribak by kamertemperatuur met 'n Wild stereo mikroskoop deursoek en die evaluasie by 60 keer vergroting gedoen. Die uitgesoekte embryos is 3 keer in skoon medium ter voorbereiding vir die oorplasing gespoel. Vir die doel van hierdie projek is slegs Graad 1 en Graad 2 embryos vir oorplasing gebruik. Die maatstawwe van Stanley Leibo<sup>58</sup> soos hieronder uiteengesit, is gebruik.

#### **Graad 1:**

Dit is 'n "perfekte" embrio met geen sigbare defekte nie. Die ontwikkelingstadium moet ooreenstem met die dag van spoeling.

#### **Graad 2:**

Hierdie embrio het een of twee defekte wat een van die volgende kan wees naamlik, 'n uitstaande blastomeer, 'n klein hoeveelheid debris of 'n effense onreëlmatige vorm. Die ontwikkelingstadium van die embrio is soos dié van Graad 1 embryos.

#### **Graad 3:**

Hierdie embryos het verskeie defekte soos byvoorbeeld los selle, effense gebreekte zona, baie lig of baie donker kleur, korrelrige voorkoms en oormatige debris binne die zona pelucida.

#### **Graad 4:**

Dié embrio het baie defekte wat al bogenoemde insluit asook 'n vertraagde ontwikkeling, debris net soveel en meer as dié van die embrio massa, 'n erg gebreekte zona pelucida, embrio gedeeltelik uit die zona pelucida en 'n erge asimetriese vorm.

#### **Onbevrugte embryos:**

Daar is net een groot onverdeelde sel in die zona pelucida teenwoordig wat soos 'n plat muntstuk lyk. Geen bevrugting het dus plaasgevind nie.

#### **Degeneratiewe embryos:**

Die ontwikkeling van die embrio is met meer as twee seldelings vertraag. Die selle is los van mekaar sodat daar nie 'n duidelike embriomassa sigbaar is nie. Die sitoplasmakorrels is nie homogeen in die sel versprei nie.

#### **Leë zonas:**

Leë gebreekte zona pelucidas.

## 3.2 ONTVANGERS

### 3.2.1 Groepsverdeling en behandeling

Die ontvangers was multipare koeie wat uit 'n kudde van 330 diere gekies is wat oorspronklik gebruik was vir die teling van Braford's en het uit Hereford's,

Brahmane en Brahmaan-Hereford F1- en F2-kruisings bestaan. Die verlangde getal van 142 ontvangers is op grond van temperament, uterus simmetrie en deursneë, aktiewe eierstokke en servikale anatomie uitgesoek. Die ontvangers was lukraak in 4 groepe, toetsgroepe genoem, verdeel, sodanig dat daar gelyke hoeveelhede van elke ras per groep was. Groep 1 (35) sou vit E/Se, Groep 2 (36)  $\beta$ -karoteen, Groep 3 (36)  $\beta$ -karoteen en Groep 4 (35) geen behandeling, ontvang. Sien Tabel 5.

**Tabel 5: Die rastipes van die ontvangers in elke toetsgroep.**

Ras	Groep 1	Groep 2	Groep 3	Groep 4
	Se/vit E	$\beta$ -Karoteen	Se/vit E + $\beta$ -Karoteen	Kontrole
Herefords	7	7	5	6
Brahmane	12	13	14	13
F1 & F2	16	16	17	16
Totaal	35	36	36	35

Al die ontvangers is 44 dae voor embrio-oorplasing teen inwendige parasiete met albendazole (Valbazen, Smith Kline) en met 'n orale vit ADE (Phenix, SA) gedoseer asook teen leptospirose (OVI), miltsiekte (OVI), lamsiekte (OVI) en drie-dae-stywe siekte (OVI) ingeënt. Terselfdertyd is die diere in hulle 4 groepe verdeel, geweeg en vir kondisie beoordeel. Die kondisie beoordeling en massabepaling is 14 dae na embrio-oorplasing herhaal om massaverandering gedurende dié tyd vas te stel.

Groepe 1 en 3 is met 50 mg Se en 1500 mg vit E (Injecom E, ROCHE) binnespiers behandel, 44 dae en 19 dae voor die aanvang van embrio-oorplasing.

Groepe 2 en 3 is met 'n sintetiese  $\beta$ -karoteen (ROCHE) wat in die kragvoer ingesluit is behandel. Die daaglikse dosis was 420 mg  $\beta$ -karoteen poeier wat 300 mg van die aktiewe bestanddeel bevat het. Die toediening het 38 dae voor die oorplasing begin en is 8 weke daarna gestaak. Die  $\beta$ -karoteen is weekliks in die kragvoer ingemeng om stoortydperk en oksidasie van die produk te beperk. Na vermenging is die kragvoer in sakke gestoor totdat dit gebruik is.

Groep 4 het geen plasebo *per se* gekry nie maar het dieselfde roetine deur die drukgang as die ander groepe ontvang en het net soos die ander groepe elke dag ingekom om hulle kragvoer, egter sonder  $\beta$ -karoteen, in krippe te ontvang.

### 3.2.2 Voeding

#### a) Ruvoer

Die totale ontvangerkudde het aanvanklik vir 'n tydperk van 2,5 - 3 mnde op afge-oeste mielielande gewei waar hulle slegs droë mieliereste saam met 'n minimale hoeveelheid vermorste mieliepitte gekry het. Met die aanvang van die proef, 44 dae voor die oorplasingeweek, is die uitgesoekte ontvangers se mieliereste met 'n goeie kwaliteit *Eragrostus curvula* hooi vervang wat *ad lib* beskikbaar was. Gedurende hierdie periode is die diere in groot krale aangehou.

## b) Kragvoer

Vanaf 38 dae voor die embryo-oorplasing is die diere groepsgewys soggens in 'n voerkraal ingebring. Onder toesig, in aparte krippe, het hulle 3 kg kragvoer daagliks ontvang. Die kragvoer het die volgende samestelling gehad:

	% Per gewig
Mieliemeel	74,77
Melasse	9,35
Sout	9,35
Stoet konsentraat	6,54

Die stoet-konsentraat het uit die volgende bestaan:

	% Per gewig
Ureum	15,15
Bloedmeel	30,30
Molasse	10,10
Voerkalk	17,68
Grondboneoliekoekmeel	25,25
Vit B1	1,50

Die voeding van die kragvoer is tot en met dragtigheidsondersoeke 8 weke na embryo-oorplasing voortgesit.

### 3.2.3 Sinkronisasie van die ontvangers

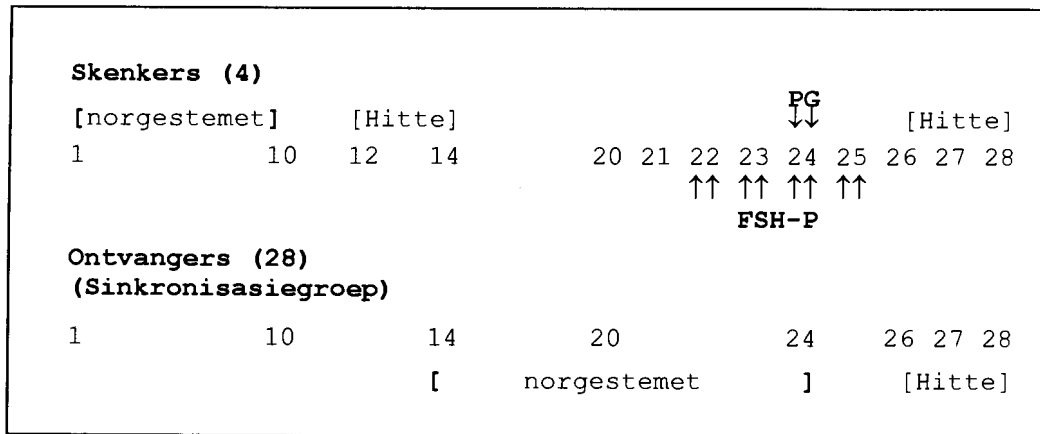
Die embryo-oorplasingsprogram was beplan om binne 'n periode van 5 agtereenvolgende dae afgehandel te word. Die toetsgroepe, sien 3.2.1, was gelykop in 5 sinkronisasiegroepe verdeel sodanig dat daar 7 koeie van elke toetsgroep in een sinkronisasiegroep was. Die sinkronisasiegroepe, 28 ontvangers, was nou ooreenkomstig op sinkronisasiedae 1 – 5 gesinkroniseer sodat elke toetsgroep verteenwoordigend op elk van die opeenvolgende spoeldae sou wees.

Norgestomet (Synchro-Mate B, Intervet SA) was ook hier as sinkronisasiemiddel gebruik. Die diere is op Dag 0 met die inplantering sowel as 3 ml norgestomet en estradiol valeraat inspuiting behandel. Op Dag 10 is die inplantering verwyder.

Hitte observasie het 24 uur na die verwydering van eerste norgestomet inplanterings begin en is vir die volgende 8 dae voortgesit. Observasie is 4-uurliks gedoen waartydens al die ontvangers geobserveer is. Twee betroubare opgeleide insemineerders met etlike jare se ondervinding het mekaar 12-uurliks afgelos om die observasies te doen. Elke ontvanger wat gedurende 'n hitte observasie periode op hitte gesien is se nommers is by die periode neergeskryf. Solank as wat 'n ontvanger op hitte was is haar nommer by die ooreenstemmende observasie periode neergeskryf. Sodoende was dit moontlik om vir elke ontvanger presies vas te stel wanneer sy op hitte gekom het, hoe lank die hitte geduur het en of daar enige abnormale estrusgedrag gedurende die tyd voorgekom het.

### 3.2.4 Ontvanger-skenker sinkronisasie

Daar was 5 sinkronisasie programme wat mekaar op agteropeenvolgende dae gevolg het. In elke sinkronisasie program was daar 4 skenkerkoeie en 28 ontvangers (sinkronisasiegroep), sien Fig 1. Die skenkers is op Dag 0 met norgestomet behandel, op Dag 10 is die oorplanterings verwyder sodat die diere op Dag 12 tot 14 op hitte kon kom. Op Dag 22 het die superovulasie met FSH-P begin en op Dag 24 het die skenkers prostaglandiene ontvang met die verwagte hitte vanaf Dag 26. Die ontvangers is op Dag 14 met norgestomet behandel, die oorplanterings is op Dag 24 verwyder met hul verwagte hittedes ook vanaf Dag 26.

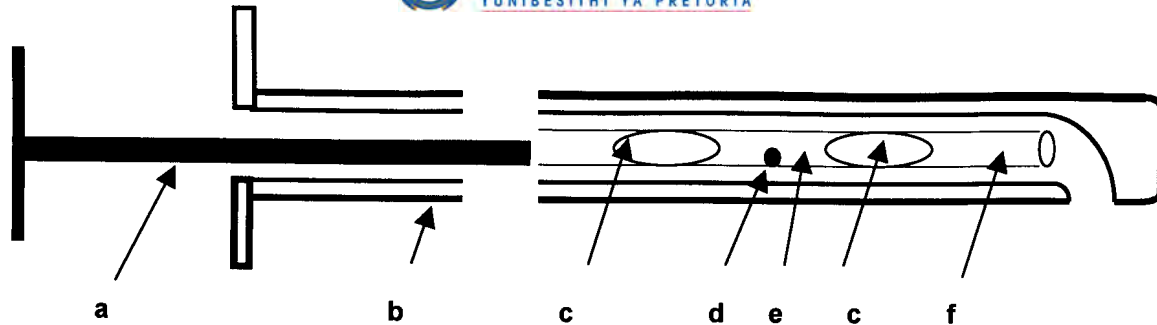


**Fig. 1: Sinkronisasieprogram van skenkers en ontvangers vir elkeen van die spoeldae**

### 3.2.5 Oorplasingprosedures

Op die dag van spoeling is rektale palpasies op al die ontvangers se geslagstelsels uitgevoer. Die teenwoordigheid en posisie van die corpus luteum, links of regs, asook die grootte daarvan, is aangeteken. Nadat die skenkerkoeie gespoel en die aantal bruikbare embrios (Graad 1 en 2) bepaal is, is die ontvangers geselekteer. Gelyke getalle ontvangers is op elke spoelag uit elke behandelingsgroep gekies.

Vir die oorplasing is elke embrio in 'n deursigtige inseminasie strooitjie met 'n lugblasie aan weerskante van die 1 cm lange spoelmedium kolom waarin die embrio was, opgesuig. Die strooitjie is dan in 'n steriele staal embrio-pistolet (Görlach, Wörlein, Duitsland) gelaai en diepistolet met 'n steriele sagte plastiese slopie bedek (Fig 2)<sup>87</sup>.



- a plunjer
- b staalpistolet
- c lugblasie
- d embryo
- e spoelmedium
- f plastiese strooitjie

**Fig. 2: Embryo-oorplasingspistolet**

Die embryo-oorplasing is nie-chirurgies uitgevoer. Die ontvanger is een uur voor oorplasing met 20 mg acetilpromazine (ACP, Centaur) binnespiers behandel en onmiddellik voor oorplasing is epidurale verdoving met 6 ml 2 % lignocaine (Centaur) toegedien. Die vulva is met alkohol, terwyl die een arm van die operateur reeds in die rektum was, skoongemaak.

Vir die invoer van die pistolet in die vagina is die vulva deur 'n helper oopgehou. Onder rektale kontrole is die pistolet tot by die serviks gestoot. Net voor die serviks is die plastiese slopie gepenetreer voordat die pistolet deur die serviks gevoer is. Die embryo is in die ooreenstemmende horing as die kant van die corpus luteum geplaas. Die diepte van plasing het van 2 tot 15 cm verby die eksterne uterine bifurkasie gewissel. Die diepte is bepaal deur die toeganklikheid van die uterus. Sodra enige weerstand teen die invoer van die pistolet gebied was, is die embryo gedeponeer.

Dragtigheidsondersoeke is 8 weke na oorplasing deur middel van rektale palpasië uitgevoer.

### 3.3 BLOEDMONSTERS EN PLASMAPARAMETERS

#### 3.3.1 Trek en hantering van die bloedmonsters

Op Dag 3 van die spoelweek is bloed van elke ontvangerdier getrek. Sinkronisasiegroep 1 was nou op Dag 9 met die ander Sinkronisasiegroepe 2, 3, 4 en 5 nou op Dag 8, 7, 6 en 5 van hulle siklus onderskeidelik. Een 10 ml bloedmonster in heparien is vir die GSH-Px bepalings getrek en onmiddellik op ys na Onderstepoort vervoer waar die bepalings binne 4 uur gedoen is. Vir die bepaling van  $\beta$ -karoteen,  $\alpha$ -tocoferol, vit A (retinol) en progesteron is die bloed in 10 ml heparien buise getrek, onmiddellik afgeswaai en die plasma in plastiekbuisse gevries.

#### 3.3.2 RBS GSH-Px bepalings

Die RBS-GSH-Px bepalings is in die Departement Fisiologie, Farmakologie en Toksikologie, Fakulteit Veeartsenykunde, Universiteit van Pretoria, volgens die metode soos deur Ehret *et al.*<sup>29</sup> beskryf, gedoen.

### 3.3.3 Progesteron bepaling

Plasma progesteronkonsentrasies is deur middel van radio-immunologiese metode bepaal. Die betroubaarheid van die metode wat gebruik is ( $I^{125}$ -Coat-a-Count, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, USA), het 'n bewese betroubaarheid vir beesplasmamonsters<sup>80, 102</sup>.

### 3.3.4 $\beta$ -Karoteen bepaling

$\beta$ -Karoteen bepaling is deur Roche Pharmaceuticals (Switzerland) volgens die metode beskryf deur Hess et al. gedoen<sup>45</sup>.

### 3.3.5 Vitamien E bepaling

Vitamien E bepaling is deur Roche Pharmaceuticals (Switzerland) volgens die metode beskryf deur Hess et al. gedoen<sup>45</sup>.

### 3.3.6 Vitamien A bepaling

Vitamien A bepaling is deur Roche Pharmaceuticals (Switzerland) volgens die metode beskryf deur Hess et al. gedoen<sup>45</sup>.

## 3.4 DATA-VERWERKING

Daar is eerstens verkennende data-analise gedoen. Histogramme is van die waardes van die veranderlikes gemaak. Vergelykende Bek-en-snorgrafieke (*Box plots*) is ook van die belangrikste veranderlikes gemaak. Dié grafieke gee 'n aanduiding van die middel, sowel as die verspreiding van die data. Die kepie (*notch*) in die middel van die bek, is by die mediaan, die middelste waarde. Die bek is geteken sodat presies die helfte (50%) van die waarnemings binne-in die bek val. Dit is gebruik om die verskillende toetsgroepe sowel as ander groepe (byvoorbeeld die sinkronisasiegroepe) visueel te vergelyk.

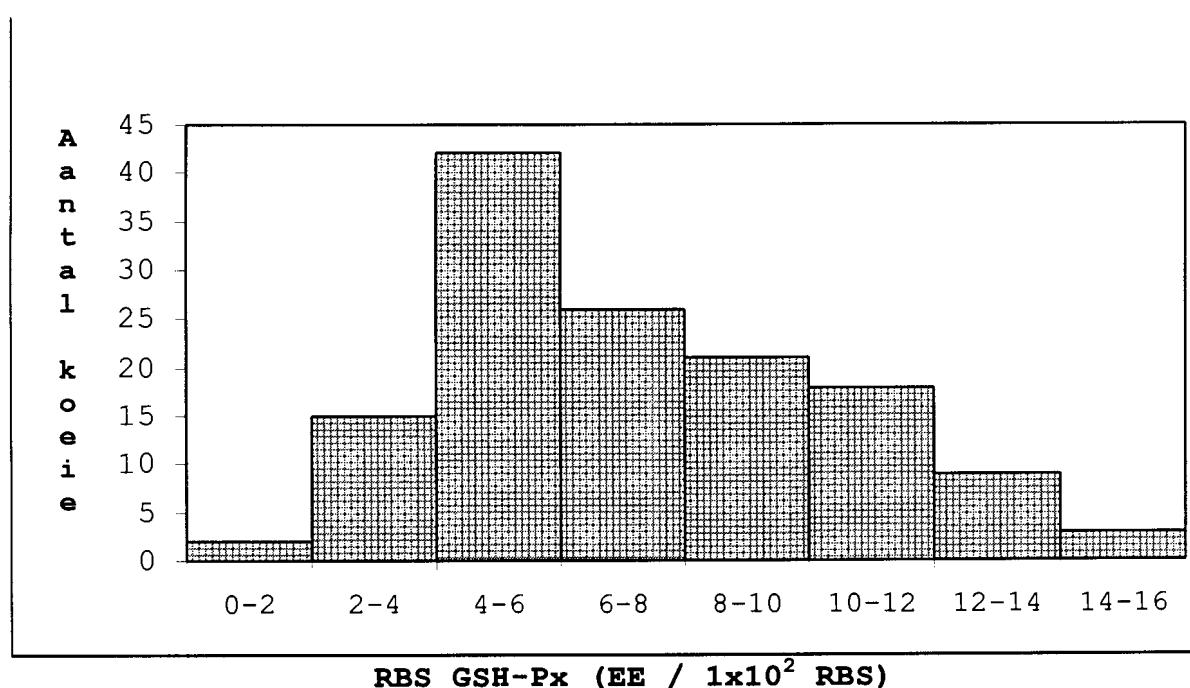
Analise van variansie is gedoen op elk van die veranderlikes om te bepaal of daar beduidende verskille tussen die gemiddeldes vir sommige van die gespesifiseerde groepe was. In die gevalle waar die variansie-analise wel beduidende verskille aangedui het, is Fisher se kleinste kwadrate meervoudige vergelykingprosedure by 'n 5% betekenispeil gebruik om te bepaal watter groepe beduidend verskil van mekaar (wat die gemiddeldes van die veranderlike betref). Die pare groepe wat beduidend verskil, is aangedui in die tabelle. Korrelasie-analises is ook gedoen, om verbande tussen veranderlikes te identifiseer<sup>113</sup>.

## HOOFSTUK 4 RESULTATE

### 4.1 SELENIUM

#### 4.1.1 Rooibloedsel glutathion peroksidase aktiwiteit en selenium toediening

Die gemiddelde rooibloedsel glutathion peroksidase (RBS GSH-Px) aktiwiteit van die totale groep ontvangers was 7,364 Ensiem Eenhede (EE) / $1 \times 10^{10}$  rooibloedselle (RBS). Die laagste waarde was 1,72 EE / $1 \times 10^{10}$  RBS en die hoogste was 15,95 EE /  $1 \times 10^{10}$  RBS. Fig 3 dui die verspreiding van die RBS GSH-Px aktiwiteit van al die diere aan.



**Fig. 3: Histogram van die verspreiding van die RBS GSH-Px aktiwiteit van al die ontvangers (EE /  $1 \times 10^{10}$  RBS)**

Selenium was net aan die helfte van die ontvangers toegedien. Die toediening van Se self en die daaropvolgende RBS GSH-Px aktiwiteit was hoogs betekenisvol gekorreleer ( $R^2=0,32960$ ,  $n = 136$ ,  $P<0,0000$ ). Die 68 diere met Se behandeling se RBS GSH-Px waarde was 9,17 EE / $1 \times 10^{10}$  RBS in vergelyking met die 5,56 EE / $1 \times 10^{10}$  RBS van die 68 wat geen Se ontvang het nie.

Die ontvangers het uit 5 verskillende rastipes bestaan. Die onderlinge RBS GSH-Px aktiwiteit het nie statisties van mekaar verskil nie ( $P=0,9392$ ).

Die ontvangers was gesinkroniseer om op 5 opeenvolgende dae op hitte te kom. Die gemiddelde RBS GSH-Px aktiwiteit van die gesinkroniseerde groepe was met mekaar vergelyk en statisties was daar geen betekenisvolle verskille nie ( $P=0,8718$ ).

b. 14442978

i. 1474661x



#### 4.1.2 RBS GSH-Px aktiwiteit van die ontvangers binne groepsverband

Merkbare verskille is tussen die gemiddelde RBS GSH-Px aktiwiteit van die vier groepe waargeneem. Die gemiddelde GSH-Px aktiwiteit van die vier groepe word in Tabel 6 aangedui. Dit was veral Groep 3 (Se/vit E,  $\beta$ -karoteen) wat heelwat hoër as dié van die ander groepe was. Hierna het Groep 1 (Se/vit E) en Groep 2 ( $\beta$ -karoteen) kort op mekaar gevolg met Groep 4 (negatiewe kontrole) die laagste. Analise van variansie het aangedui dat van die verskille betekenisvol was. Volgens Fisher se meervoudige vergelykingsprosedure was daar betekenisvolle verskille tussen Groepe 1 en 3; 1 en 4; 2 en 3; 2 en 4, en 3 en 4 ( $P < 0,0000$ ). Daar was geen betekenisvolle verskille tussen Groepe 1 en 2 nie.

**Tabel 6: Gemiddelde RBS GSH-Px aktiwiteit van die 4 toetsgroepe (EE /  $1 \times 10^{10}$  RBS)**

Groep	n	Gemiddeld	Verskil van groep	Standaard-afwyking	Minimum	Maksimum
1	33	7,489	3,4	2,454	3,362	12,153
2	34	6,615	3,4	2,333	3,600	13,533
3	35	10,745	1,2,4	2,435	6,418	15,953
4	34	4,512	1,2,3	1,437	1,723	7,550

In Fig 4 kan die verspreiding van die waardes van die verskillende groepe gesien word. Groepe 1 en 3 het 'n redelike wye verspreiding gehad terwyl groepe 2 en 4 se waardes nader aan mekaar gelê het.



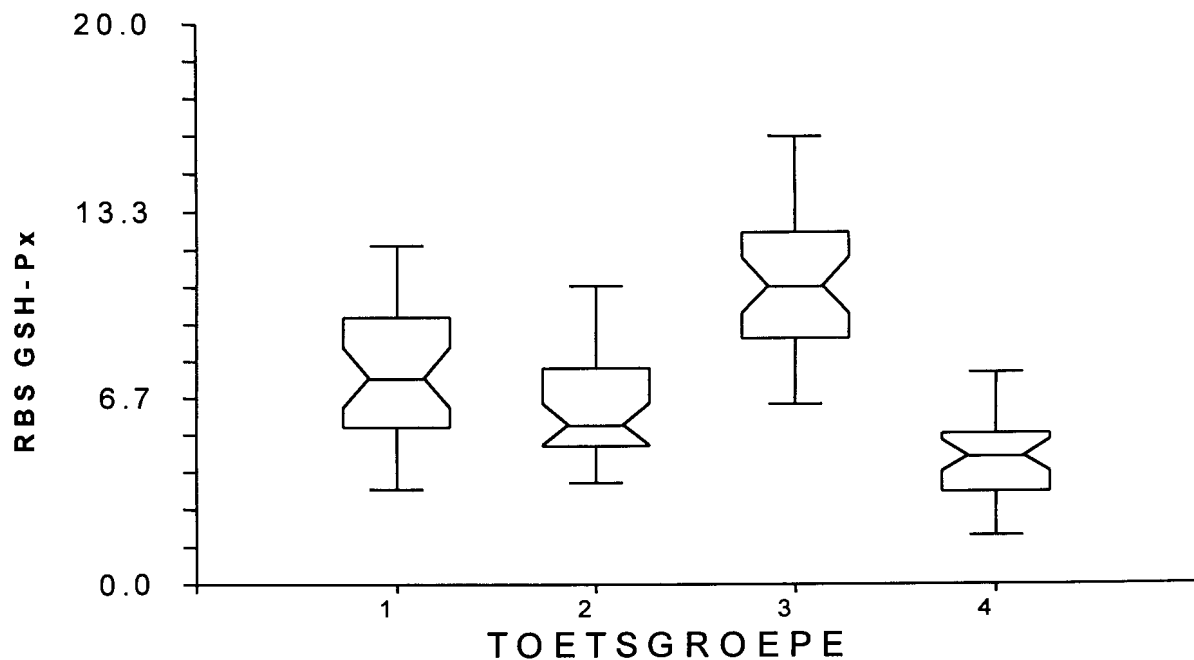


Fig. 4: Bek-en-snorgrafiek van die RBS GSH-Px aktiwiteit van die vier toetsgroepe (EE /  $1 \times 10^{10}$  RBS)

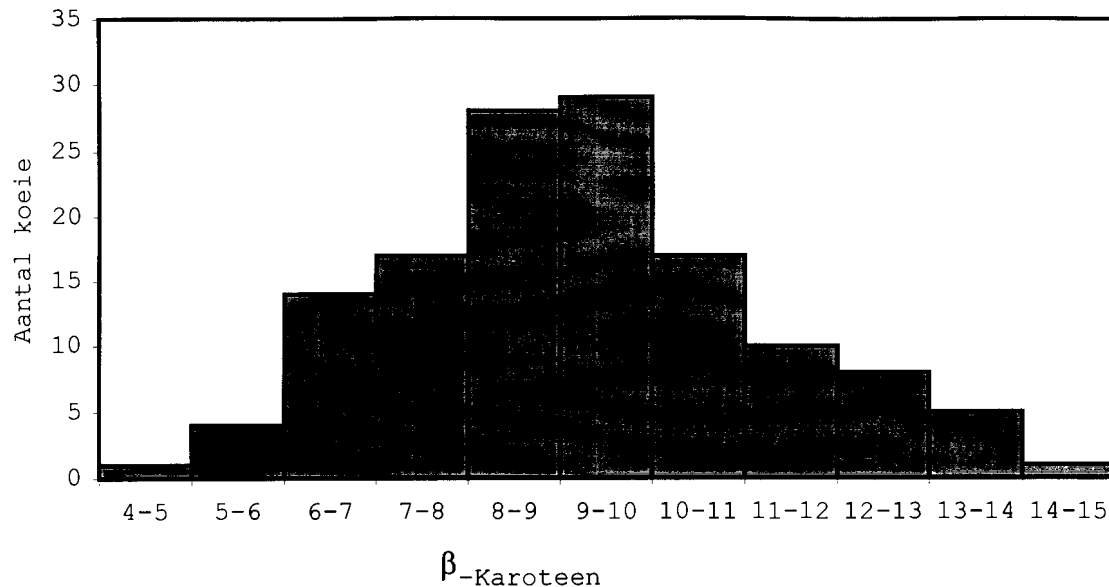
#### 4.1.3 Die effek van $\beta$ -karoteen toediening op RBS GSH-Px aktiwiteit

Daar was 'n hoogs betekenisvolle korrelasie tussen die toediening van  $\beta$ -karoteen en die RBS GSH-Px aktiwiteit ( $R^2=0,18950$ ,  $n = 136$ ,  $P<0,0000$ ). Die verskil tussen die vier groepe kan in Tabel 6 gesien word. Met analise van variansie kon betekenisvolle verskille tussen die vier groepe gedemonstreer word. Volgens die t-toets het Groep 4 betekenisvol van al die ander groepe, insluitende Groep 2, verskil. Groep 2 het wel  $\beta$ -karoteen ontvang en groep 4 nie. Daar was egter geen aanduiding van 'n verband tussen die  $\beta$ -karoteen plasmavlakke en RBS GSH-Px aktiwiteit nie ( $P=0,4984$ ).

## 4.2 $\beta$ -KAROTEEN

### 4.2.1 $\beta$ -Karoteen plasmavlakke

Die gemiddelde  $\beta$ -karoteen plasmavlak van al die ontvangers ongeag van hulle groep was  $9,232 \mu\text{mol}/\ell$ . Die hoogste waarde was  $14,93 \mu\text{mol}/\ell$  en die laagste waarde was  $4,68 \mu\text{mol}/\ell$ . Fig 5 dui die verspreiding van al die ontvangers aan.



**Fig. 5: Histogram van plasma β-karoteen-waardes van al die ontvangers (µmol/l)**

Die helfte van die diere (Groepe 2 en 3) het β-karoteen ontvang. Die toediening van β-karoteen was betekenisvol gekorreleer met β-karoteen plasmavlakke naamlik ( $R^2=0,09296$ ,  $n = 134$ ,  $P=0,0003$ ). Die waardes kan in Tabel 7 gesien word.

Geen beduidende verskille kon tussen ras tipe en β-karoteen plasmavlakke gedemonstreer word nie ( $P = 0,5240$ ).

Die β-karoteen plasmavlakke van die 5 sinkronisasiegroepe is met mekaar vergelyk. Daar was geen betekenisvolle verskille tussen die waardes van dié groepe nie ( $P = 0,1777$ ).

**Tabel 7: Plasma β-karoteen waardes van al dié ontvangers wat β-karoteen ontvang het teenoor dié wat niks ontvang het nie (µmol/l)**

β-Karoteen toedien?	n	Gemiddeld	Standaard-afwyking
Ja	68	9,831	0,232
Nee	66	8,616	0,235

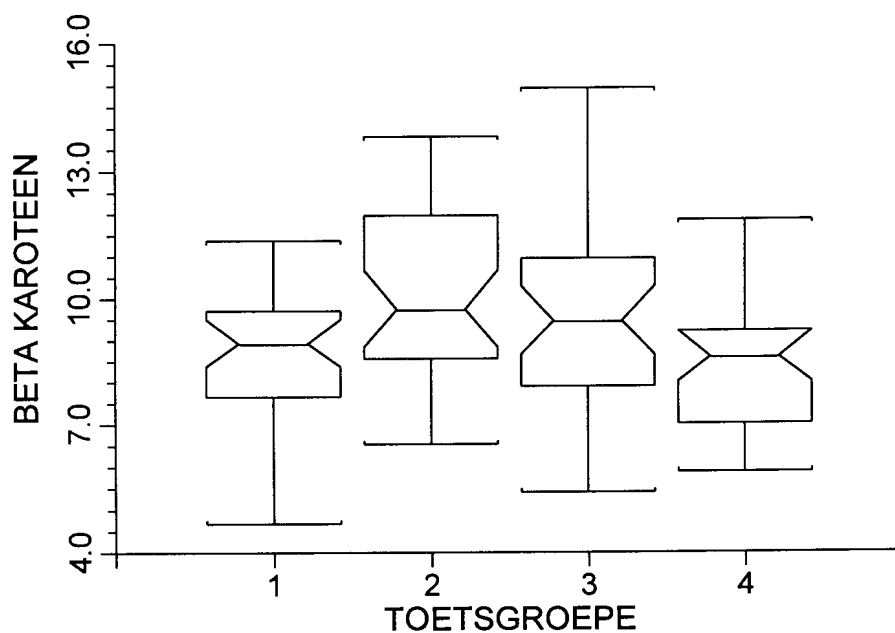
#### 4.2.2 β-Karoteen plasmavlakke van ontvangers binne groepsverband

Die groepe wat β-karoteen ontvang het, Groepe 2 en 3, se plasmavlakke was merkbaar hoër as dié van die groepe, Groepe 1 en 4, wat geen β-karoteen ontvang het nie (Fig 6). Analise van variansie het ten minste een betekenisvolle verskil tussen die gemiddeldes van die vier groepe aangedui ( $P = 0,0021$ ). Fisher se meervoudige vergelykingsprosedure het betekenisvolle verskille tussen Groepe 1

en 2; 2 en 4; en tussen 3 en 4 getoon. Die verskille tussen Groepe 1 en 3 en 1 en 4 was onbeduidend (Tabel 8).

**Tabel 8: Gemiddelde plasma  $\beta$ -karoteen waardes van die 4 toetsgroepe ( $\mu\text{mol/l}$ )**

Groep	n	Gemiddeld	Verskil van groep	Standaard-afwyking	Minimum	Maksimum
1	33	8,727	2	1,618	4,68	11,38
2	34	10,133	1,4	1,993	6,54	13,80
3	34	9,529	4	2,22	5,41	14,93
4	33	8,505	2,3	1,746	5,89	13,97



**Fig. 6: Bek-en-snorgrafiek van die plasma  $\beta$ -karoteen waardes van die vier toetsgroepe ( $\mu\text{mol/l}$ )**

#### 4.2.3 Die effek van Se/vit E toediening op $\beta$ -karoteen plasmavlakke

Daar was geen aanduiding van 'n verband tussen Se/vit E toediening en  $\beta$ -karoteen plasmavlakke nie ( $R^2 = 0,00245$ ,  $n=134$ ,  $P=0,5703$ ). So ook was daar geen korrelasie tussen RBS GSH-Px aktiwiteit en  $\beta$ -karoteen plasmavlakke nie ( $R^2 = 0,00351$ ,  $n=133$ ,  $P=0,4984$ ).

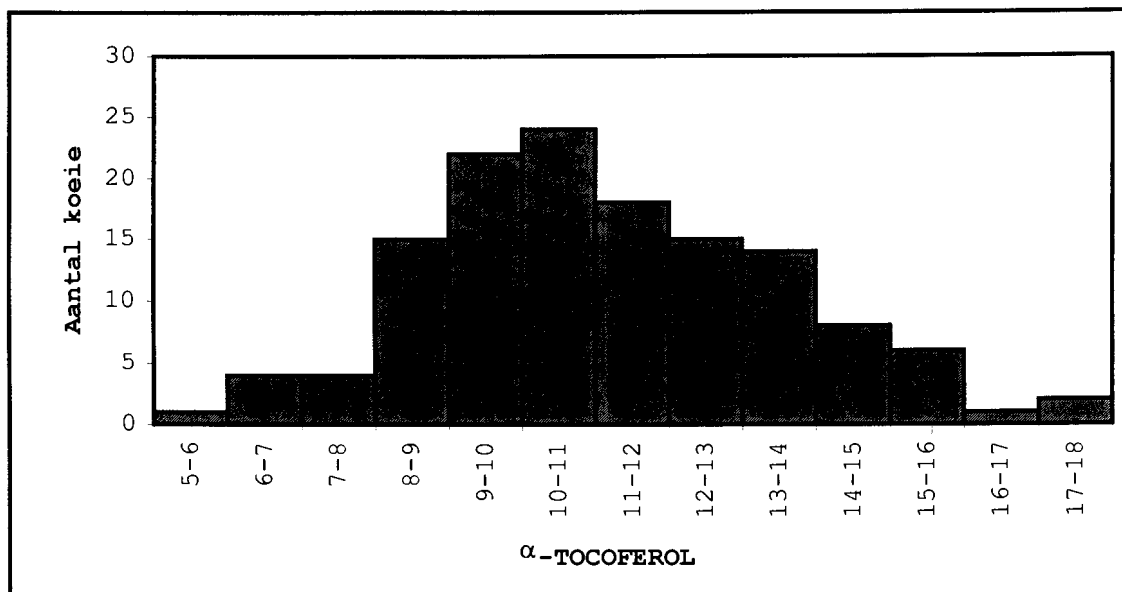
### 4.3 VITAMIEN E ( $\alpha$ -TOCOFEROL)

#### 4.3.1 $\alpha$ -Tocoferol plasmavlakke (algemeen)

Daar was 'n betekenisvolle korrelasie tussen die toediening van Se/vit E en die  $\alpha$ -tocoferol plasmavlakke van die ontvangers  $R^2 = 0,06344$ , ( $n = 134$ ,  $P = 0,0033$ ).  $\alpha$ -Tocoferol en selenium was saam toegedien. Daar was geen korrelasie tussen RBS GSH-Px aktiwiteit en  $\alpha$ -tocoferol plasmavlakke nie ( $P = 0,7571$ ). Die gemiddelde plasmavlak van al die ontvangers was  $11,1791 \mu\text{mol}/\ell$ . Die laagste en hoogste waarde was  $5,34 \mu\text{mol}/\ell$  en  $17,65 \mu\text{mol}/\ell$ , onderskeidelik.

Daar was 'n betekenisvolle korrelasie tussen die  $\alpha$ -tocoferol plasmavlakke en die  $\beta$ -karoteen plasmavlakke van die ontvangers  $R^2 = 0,11471$ , ( $n = 134$ ,  $P = 0,0001$ ).

In Fig 7 kan die verspreiding van die gemiddelde  $\alpha$ -tocoferol plasmavlakke van al die ontvangers gesien word.



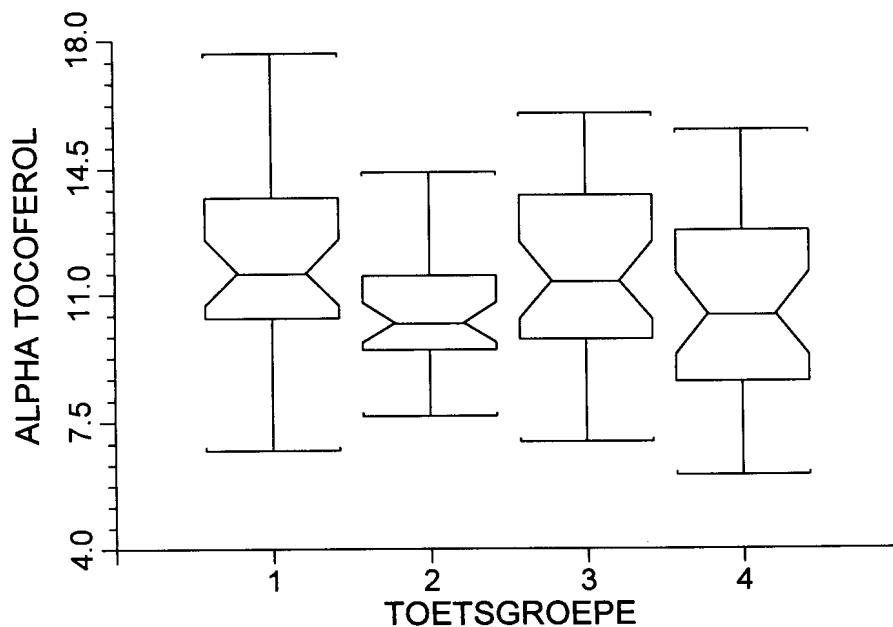
**Fig. 7: Histogram van die plasma  $\alpha$ -tocoferol waardes van al die ontvangers ( $\mu\text{mol}/\ell$ )**

### 4.3.2 $\alpha$ -Tocoferol plasmavlakke van die verskillende groepe

Groep 1 het die hoogste gemiddelde  $\alpha$ -tocoferol-waarde gehad met Groep 3 effens laer maar tog baie na aan daaraan. Groepe 2 en 4 se waardes was na aan mekaar maar heelwat laer as die eersgenoemde groepe (Fig 8). Analise van variansie het ten minste een betekenisvolle verskil tussen die gemiddelde plasmavlakke van die vier groepe aangedui ( $P = 0,0334$ ) (Tabel 9). Fisher se meervoudige vergelykingsprosedure het betekenisvolle verskille tussen Groep 1 en 2; en 1 en 4 getoon. Die verskille tussen die ander groepe, Groep 1 en 3, 2 en 3, 2 en 4 en, 3 en 4 was nie betekenisvol nie.

**Tabel 9: Die gemiddelde  $\alpha$ -tocoferol plasmavlakke van die vier toetsgroepe ( $\mu\text{mol}/\ell$ )**

Groep	n	Gemiddeld	Verskil van groep	Standaard-afwyking	Minimum	Maksimum
1	33	11,898	2,4	2,458	6,73	17,65
2	34	10,591	1	2,078	5,34	15,79
3	35	11,670		2,485	6,96	16,02
4	34	10,561	1	2,366	6,04	15,56



**Fig. 8: Bek-en-snorgrafiek van die  $\alpha$ -tocoferol plasmavlakke van die vier toetsgroepe ( $\mu\text{mol}/\ell$ )**

## 4.4 VITAMIEN A (RETINOL)

### 4.4.1 Retinol plasmavlakke (algemeen)

Vit ADE is aan al die ontvangers 44 dae voor die embryo-oorplantings toegedien. Ander bronne van vit A was 'n goeie kwaliteit *Eragrostis curvula* hooi wat aan al

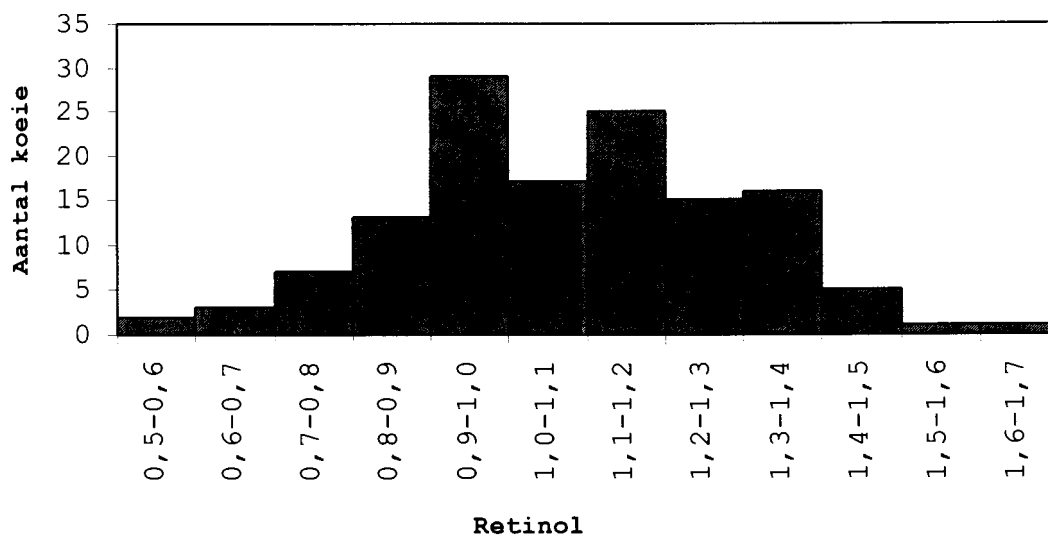
die ontvangers beskikbaar was, asook die  $\beta$ -karoteen wat Groepe 2 en 3 in hulle kragvoer gekry het. Retinol is as indikasie van vit A plasmavlakke gebruik. Die gemiddelde plasmavlakke van al die ontvangers was  $1,079 \mu\text{mol}/\ell$  met die laagste en hoogste waarde  $0,57 \mu\text{mol}/\ell$  en  $1,7 \mu\text{mol}/\ell$ , onderskeidelik.

Daar was 'n paar beduidende korrelasies tussen Se/vit E toegedien, RBS GSH-Px aktiwiteite,  $\beta$ -karoteen toegedien en retinol plasmavlakke (Tabel 10). Daar was egter geen korrelasie tussen retinol en  $\beta$ -karoteen plasmavlakke nie. Retinol plasmavlakke was wel betekenisvol positief gekorreleer met RBS GSH-Px sowel as met progesteron vlakke.

**Tabel 10: Statistiese korrelasies tussen retinol plasmavlak en ander parameters**

Parameter	Korrelasie met retinol		
	R <sup>2</sup>	n	P
Se toegedien	0,025	134	0,067
RBS GSH-Px	0,031	133	0,043
$\beta$ -Karoteen toegedien	0,023	134	0,084
$\beta$ -Karoteen plasmavlak	0,005	134	0,424
Dragtigheid	0,002	76	0,687
Progesteron	0,034	134	0,032

Die verspreiding van al die ontvangers ten opsigte van hulle plasmavlakke van retinol word in Fig 9 aangedui.



**Fig. 9: Histogram van die retinol plasmavlakke van al die ontvangers ( $\mu\text{mol}/\ell$ )**

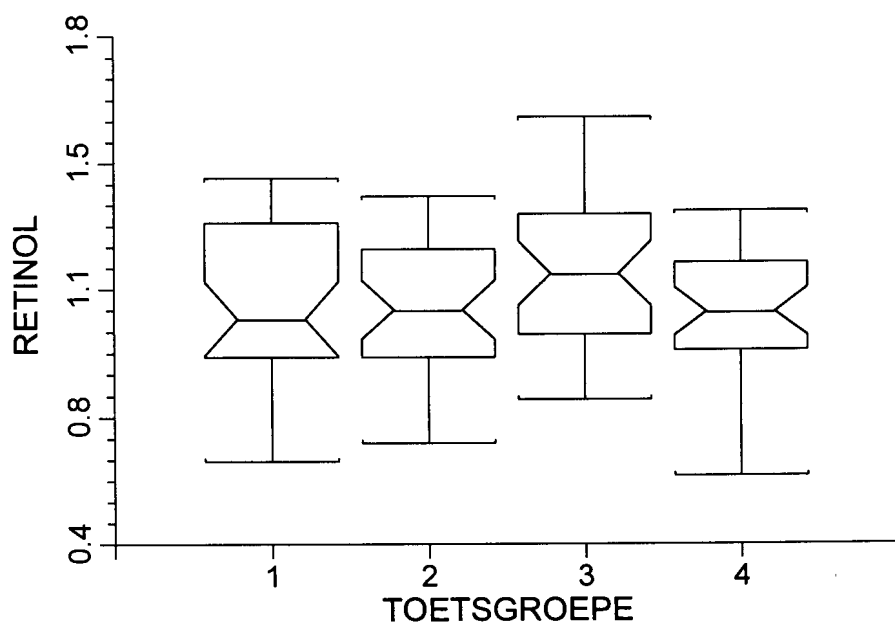
#### 4.4.2 Retinol plasmavlakke van die verskillende groepe

Groep 3 het by uitstek die hoogste retinolvlak gehad. Die tweede hoogste was Groep 1 met Groep 2 kort daarna en Groep 4 met die laagste gemiddelde vlak (Fig

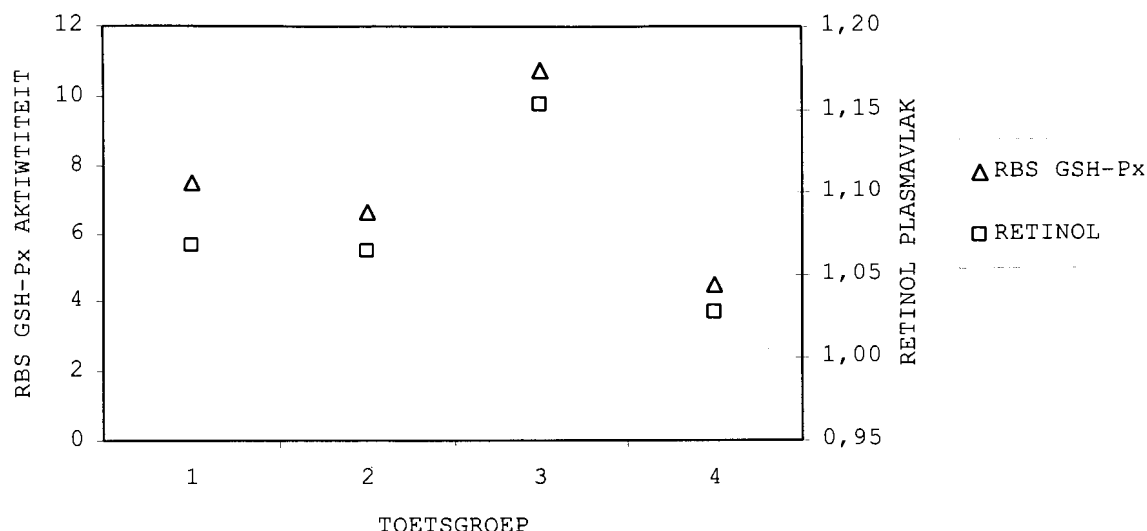
10). Daar was nie 'n beduidende verskil tussen die gemiddeldes nie. Analise van variansie het nie 'n betekenisvolle verskil tussen die gemiddelde plasmavlakke van die vier groepe aangedui nie. Fisher se meervoudige vergelykingsprosedure het aangetoon dat die verskil tussen Groep 3 en Groep 4 groot was maar nie betekenisvol nie ( $P=0,0776$ ) (Tabel 11). Die ander groepe se verskille was kleiner. Alhoewel daar geen betekenisvolle verskille tussen die groepe was nie het die verhouding waarmee die groepe se gemiddelde waardes van mekaar verskil opmerklik ooreengekom met die verhouding waarin die groepe se RBS GSH-Px aktiwiteit van mekaar verskil het, sien Fig 11.

**Tabel 11: Gemiddelde retinol plasmavlak van die vier toetsgroepe ( $\mu\text{mol}/\ell$ )**

Groep	n	Gemiddeld	Standaard-afwyking	Minimum	Maksimum
1	33	1,068	0,217	0,63	1,14
2	34	1,065	0,211	0,68	1,70
3	34	1,154	0,200	0,80	1,58
4	33	1,026	0,189	0,57	1,32



**Fig. 10: Bek-en-snorgrafiek van die retinol plasmavlakke van die vier toetsgroepe ( $\mu\text{mol}/\ell$ )**



**Fig. 10: Grafiese voorstelling van RBS GSH-Px, (EE /1x10<sup>10</sup> RBS), teenoor retinol plasmavlakke, (μmol/l) van die 4 toetsgroepe**

#### 4.5 DRAGTIGHEIDSTEMPO

Geen betekenisvolle verskille is in die dragtigheidstempo van die vier groepe waargeneem nie (P=0,3995). Groepe 1 en 2 het feitlik dieselfde dragtigheidstempo getoon teenoor die laer tempo van Groep 3 met Groep 4 die laagste. Die dragtigheidstempo van die vier groepe word in Tabel 12 saamgevat.

**Tabel 12: Dragtigheidstempo van die vier toetsgroepe**

Groep	Aantal			% Dragtig
	Ontvangers	Embrios ontvang	Ontvangers dragtig	
1	34	20	10	50,0
2	34	19	9	47,4
3	36	19	6	31,6
4	34	18	5	27,8

##### 4.5.1 Die effek van Se op dragtigheidstempo

###### 4.5.1.1 Die effek van Se toediening op dragtigheidstempo

Die effek van toediening van Se per sè, ongeag van die daaropvolgende bloedvlakke, het geen effek op dragtigheidstempo gehad nie (P=0,7798).

###### 4.5.1.2 RBS GSH-Px aktiwiteit en dragtigheid binne groepsverband

Daar was slegs minimale verskille in die RBS GSH-Px aktiwiteit van die ontvangers wat embrios ontvang het binne elke groep teenoor dié wat geen



embrios ontvang het nie (Tabel 13). Die ontvangers binne elke groep wat embrios ontvang het was dus verteenwoordigend vir die groep.

**Tabel 13: RBS GSH-Px aktiwiteit van ontvangers wat embrios ontvang het teenoor dié wat geen embrios ontvang het nie binne elke groep (EE /  $1 \times 10^{10}$  RBS)**

Groep	GSH-Px ontvangers		GSH-Px nie-ontvangers	
		n		n
1	7,563	20	7,376	14
2	6,663	19	6,554	15
3	11,029	19	10,408	17
4	4,592	18	4,421	16

So ook was die verskille tussen die dragtige en die nie-dragtige ontvangers se RBS GSH-Px aktiwiteit binne die groepe gering (Tabel 14).

**Tabel 14: RBS GSH-Px aktiwiteit van dragtige ontvangers teenoor nie-dragtige ontvangers wat embrios ontvang het binne elke groep (EE /  $1 \times 10^{10}$  RBS)**

Groep	GSH-Px Dragtig		GSH-Px Nie dragtig nie	
		n		n
1	7,302	10	7,824	10
2	6,765	9	6,571	10
3	10,902	6	11,088	13
4	3,773	5	4,907	13

#### 4.5.1.3 RBS GSH-Px aktiwiteit en dragtigheid buite groepsverband

Die 76 diere wat embrios ontvang het se gemiddelde RBS GSH-Px aktiwiteit was 7,46 EE /  $1 \times 10^{10}$  RBS teenoor 7,19 EE /  $1 \times 10^{10}$  RBS van die 62 wat geen embrios ontvang het nie. Statisties het hulle nie van mekaar verskil nie ( $P=0,5706$ ) (Tabel 15).

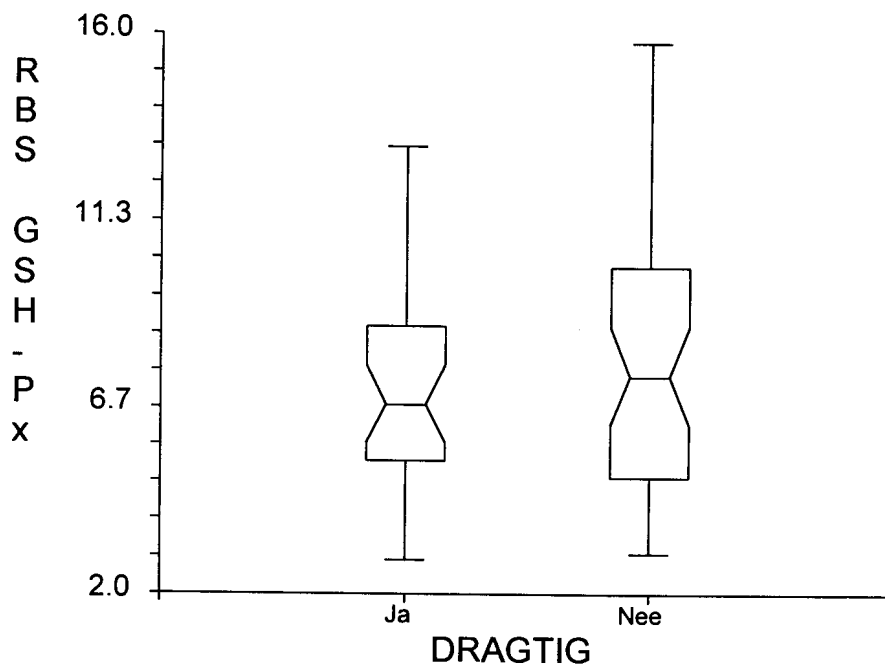
So ook was die RBS GSH-Px aktiwiteit van die dragtige diere effens laer as dié van nie-dragtige diere wat wel embrios ontvang het (Tabel 16). Hierdie verskille was egter nie betekenisvol nie ( $P = 0,7570$ ). Die RBS GSH-Px aktiwiteit van die dragtige diere het egter in 'n laer en nouer band gelê as dié van die nie-dragtige ontvangers (Fig 12). Sestig persent van die dragtige diere se RBS GSH-Px aktiwiteite het tussen 4 en 8 gelê terwyl 80% van die nie-dragtige diere se aktiwiteite tussen 4 en 12 gelê het.

**Tabel 15: RBS GSH-Px aktiwiteit van ontvangers wat embrios ontvang het teenoor ontvangers wat geen embrios ontvang het nie (EE/ $1 \times 10^{10}$  RBS)**

Embrios ontvang?	n	Gemiddeld	Standaardafwyking
Ja	76	7,462	0,253
Nee	60	7,186	0,285

**Tabel 16: RBS GSH-Px aktiwiteit van die dragtige ontvangers teenoor nie-dragtige ontvangers wat almal embryos ontvang het ( $EE / 1 \times 10^{10}$  RBS)**

Dragtig	n	Gemiddeld	Standaard-afwyking	Minimum	Maksimum
Nee	46	7,650	3,141	2,999	15,812
Ja	30	7,273	3,235	2,843	15,953



**Fig. 12: Bek-en-snorgrafiek van die RBS GSH-Px aktiwiteit van die dragtige ontvangers teenoor die nie-dragtige ontvangers ( $EE / 1 \times 10^{10}$  RBS)**

## 4.5.2 Die effek van $\beta$ -karoteen op dragtigheid

### 4.5.2.1 $\beta$ -Karoteen toediening en dragtigheid

Die toediening van  $\beta$ -karoteen as sodanig was glad nie gekorreleer met dragtigheid nie  $R^2=0,0000$ ; ( $n = 76$ ,  $P = 1,0000$ ).

### 4.5.2.2 $\beta$ -Karoteen plasmavlakke en dragtigheid binne groepsverband

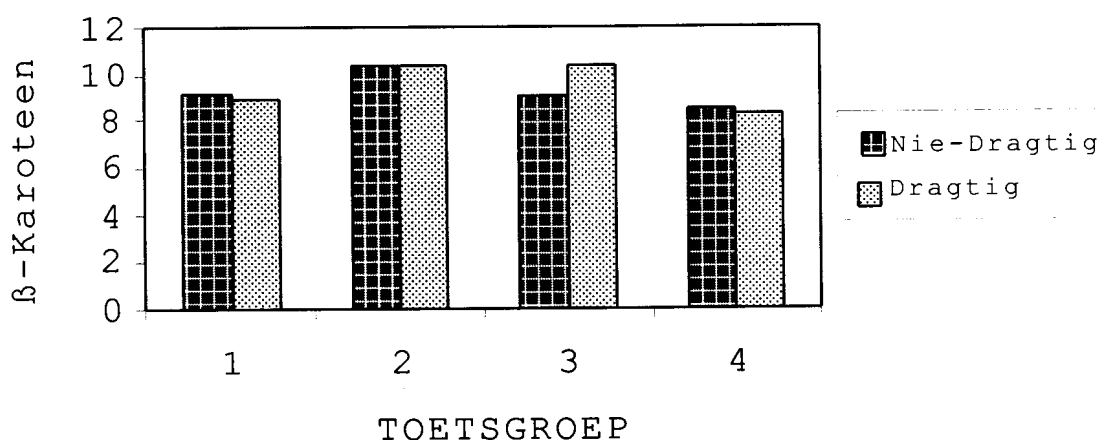
Binne die groepe was die gemiddelde  $\beta$ -karoteen plasmavlakke van die ontvangers wat embryos ontvang het effens hoër as dié wat geen embryos ontvang het nie (Tabel 17). Hierdie verskil was onbeduidend en die diere binne die groep wat wel embryos ontvang het kon as verteenwoordigend van die groep beskou word. Slegs in Groep 3 (Se,  $\beta$ -kar), was die dragtige diere se plasmavlakke effens hoër as dié van die nie-dragtige ontvangers (Tabel 18). Die ander groepe se waardes van dragtige teenoor nie-dragtige ontvangers het min van mekaar verskil (Fig 13).

**Tabel 17: Plasma  $\beta$ -karoteen waardes binne groepe van ontvangers wat embrios ontvang het teenoor dié wat geen embrios ontvang het nie ( $\mu\text{mol}/\ell$ )**

Groep	$\beta$ -Karoteen embrios ontvang	n	$\beta$ -Karoteen geen embrios ontvang	n
1	9,064	20	8,209	14
2	10,345	19	9,863	15
3	9,476	19	9,595	17
4	8,404	18	8,626	16

**Tabel 18: Plasma  $\beta$ -karoteen waardes binne groepe van dragtige ontvangers teenoor nie-dragtige ontvangers wat embrios ontvang het ( $\mu\text{mol}/\ell$ )**

Groep	$\beta$ -Karoteen dragtiges	n	$\beta$ -Karoteen nie-dragtiges	n
1	8,938	10	9,19	10
2	10,298	9	10,388	10
3	10,418	6	9,042	13
4	8,288	5	8,448	13



**Fig. 13: Staafdiagram van plasma  $\beta$ -karoteen-waardes binne groepe van dragtige ontvangers teenoor nie-dragtige ontvangers wat embrios ontvang het ( $\mu\text{mol}/\ell$ )**

#### 4.5.2.3 $\beta$ -Karoteen plasmavlakke en dragtigheid buite groepsverband

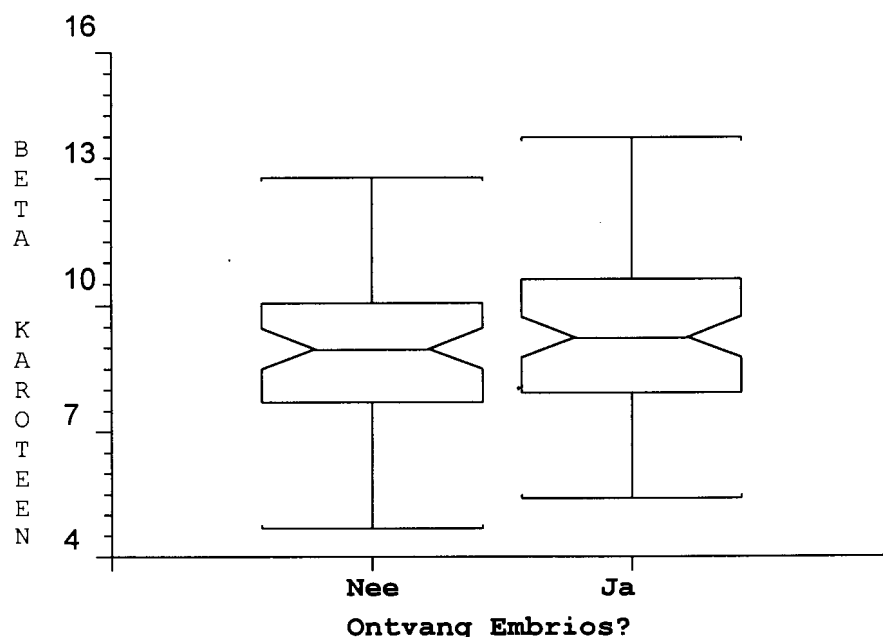
##### a) Ontvangers teenoor nie-ontvangers

Met die weglating van die groepsverband van die ontvangers was die gemiddelde  $\beta$ -karoteen vlakke van die ontvangers wat embrios ontvang het  $9,33 \mu\text{mol}/\ell$

teenoor 9,10  $\mu\text{mol}/\ell$  vir die wat geen embrios ontvang het nie (Tabel 19). Daar was geen betekenisvolle verskil tussen die twee groepe nie ( $P=0,4692$ ). In Fig 14 kan die verpreiding van die twee groepe gesien word. Die groep wat embrios ontvang het was effens groter en hulle gemiddelde  $\beta$ -karoteen vlakke was effens hoër.

**Tabel 19:  $\beta$ -Karoteen waardes van ontvangers wat embrios ontvang het teenoor dié wat geen embrios ontvang het nie ( $\mu\text{mol}/\ell$ )**

Embrios ontvang?	n	Gemiddeld	Standaardafwyking	Minimum	Maksimum
Ja	76	9,331	2,091	5,41	14,93
Nee	62	9,103	1,882	4,68	13,80



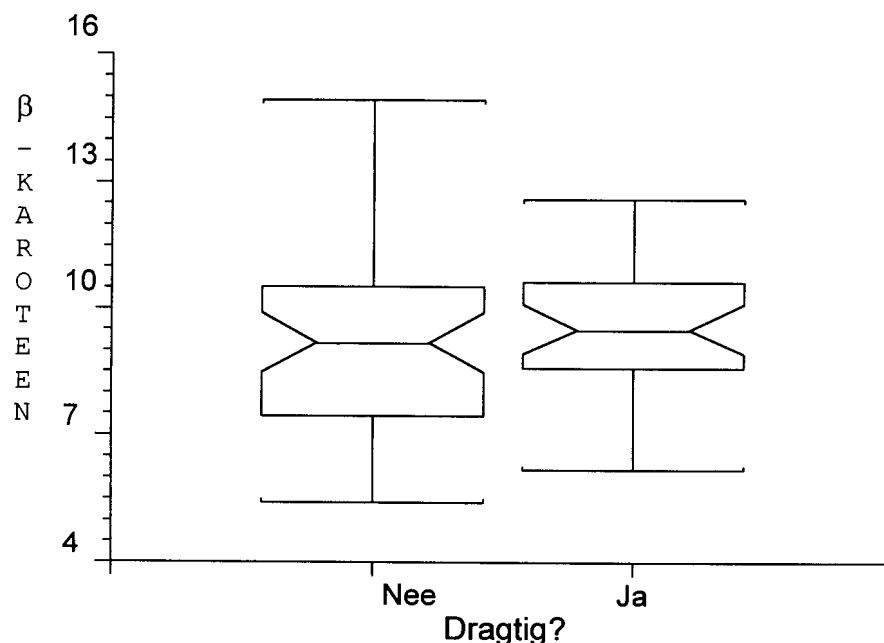
**Fig. 14: Bek-en-snorgrafiek van die  $\beta$ -karoteen konsentrasie van die ontvangers wat embrios ontvang het teenoor dié wat geen ontvang het nie.**

#### **b) Dragtige teenoor nie-dragtige ontvangers**

Die  $\beta$ -karoteen waardes van die dragtige teenoor die nie dragtige diere wat embrios ontvang het, het weinig van mekaar verskil alhoewel die dragtige ontvangers se gemiddelde vlakke effens hoër was (Tabel 20). Die Bek-en-snorgrafiek in Fig 15 wys dat die diere wat dragtig geraak het se gemiddelde waardes egter meer gekonsentreerd was. Die meerderheid (82,5%) van die nie-dragtige ontvangers se waardes was tussen 5 en 11 ( $\mu\text{mol}/\ell$ ) terwyl die meerderheid (83,4%) van die dragtige ontvangers se waardes tussen 8 en 13 ( $\mu\text{mol}/\ell$ ) gelê het.

**Tabel 20:  $\beta$ -Karoteen bloedvlakke: Dragtige teenoor nie-dragtige ontvangers van dié wat embryos ontvang het ( $\mu\text{mol}/\ell$ )**

Dragtig?	n	Gemiddeld	Standaardafwyking	Minimum	Maksimum
Ja	30	9,534	1,745	5,46	12,6
Nee	46	9,199	2,298	5,41	14,93



**Fig. 15: Bek-en-snorgrafiek van die  $\beta$ -karoteen waardes van die dragtige teenoor die nie-dragtige ontvangers**

## 4.6 PROGESTEROON

### 4.6.1 Progesteron plasmavlakke ten opsigte van sinkronisasie groepe

Daar was net op een dag bloed in die middel van die week tydens die embrioorplasingsprogram getrek, sien 3.3.1. Die progesteronvlakke behoort dus binne die sinkronisasiegroepe met mekaar vergelyk te word. Opsommend kan in Tabel 21 die gemiddelde progesteronvlakke van die 5 verskillende sinkronisasiegroepe met mekaar vergelyk word. Sinkronisasiegroep 1 wat nou op Dag 9 van hulle estrussiklus was, het die hoogste waardes gehad soos verwag kon word. Die ander sinkronisasiegroepe se progesteronvlakke was baie na aan mekaar met Sinkronisasiegroep 5, wat op Dag 5 van hulle siklus was, die laagste. Statisties was daar geen betekenisvolle verskille tussen die gemiddeldes van die verskillende sinkronisasiegroepe nie ( $P=0,2982$ ).

**Tabel 21: Gemiddelde plasma progesteron waardes van die 5 sinkronisasiegroepe (nmol/l)**

Sinchronisasie groep	Siklus dag	n	Gemiddeld	Standaard-afwyking	Minimum	Maksimum
1	9	30	5,849	4,377	0,176	12,381
2	8	26	4,368	3,849	0,169	17,776
3	7	26	4,187	2,969	0,26	11,398
4	6	25	4,57	3,357	0,178	11,096
5	5	27	3,862	3,606	0,167	17,555

In Tabel 22 word die 4 toetsgroepe se progesteronvlakke binne die sinkronisasiegroepe met mekaar vergelyk. Slegs in Sinkronisasiegroep 3 kon daar met analise van variansie 'n betekenisvolle verskil tussen die toetsgroepe se gemiddeldes gedemonstreer word. Volgens Fisher se meervoudige vergelykingsprosedure het Groep 2 in Sinkronisasiegroep 3 betekenisvol van al die ander toetsgroepe verskil, dit is tussen Groep 1 en 2, 2 en 3, en 2 en 4. Die ander groepe, Groep 1 en 3, 1 en 4 en 3 en 4, het nie betekenisvol van mekaar verskil nie.

**Tabel 22: Gemiddelde plasma progesteron waardes van die 4 toetsgroepe soos verdeel in sinkronisasiegroepe (nmol/l)**

SINKRONISASIE GROEPE	TOETSGROEPE							
	1		2		3		4	
	n	Gemiddeld	n	Gemiddeld	n	Gemiddeld	n	Gemiddeld
1	8	6,611	8	3,731	7	5,946	7	7,303
2	6	7,181	7	3,531	8	4,016	6	3,470
3	7	5,771	5	0,900*	7	4,091	7	5,047
4	7	4,129	7	3,610	7	4,156	7	6,551
5	6	4,858	7	2,044	7	3,216	7	5,475

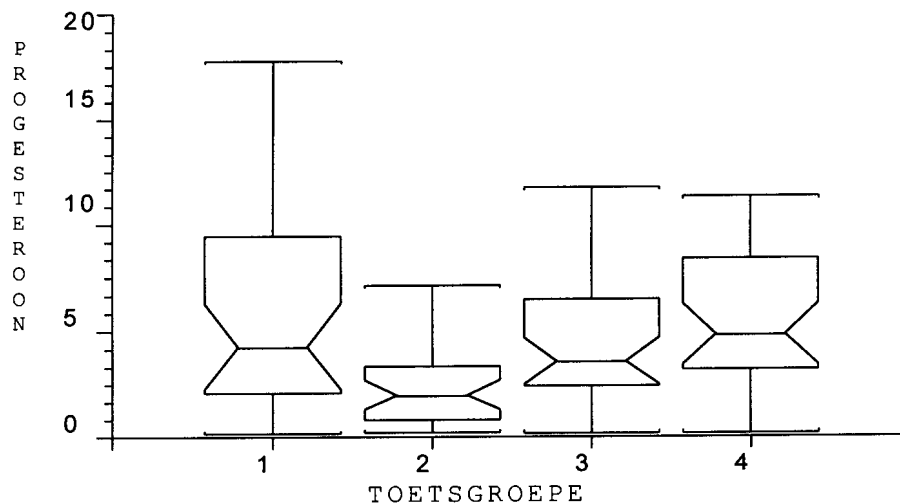
Die \* dui die gemiddelde aan wat, volgens Fisher se meervoudige vergelykingsprosedure, beduidend van al die ander in toetsgroep 2 verskil.

#### 4.6.2 Progesteronvlakke en groepsverband

Elke toetsgroep het gelyke hoeveelheid ontvangers gehad wat op verskillende dae van hulle siklus was na aanleiding van hulle verdeling in die verskillende sinkronisasiegroepe, sien Tabel 22. Die gemiddelde progesteronvlakke van elke toetsgroep word in Tabel 23 saamgevat. Daar was 'n betekenisvolle verskil tussen die toetsgroepe. Fisher se meervoudige vergelykingsprosedure het betekenisvolle verskille tussen Groep 1 en 2; en 2 en 4 ( $P = 0,0046$ ) getoon. Groepe 1 en 3, 1 en 4, 2 en 3, en 3 en 4 het nie betekenisvol van mekaar verskil nie. Die resultate word in Fig 16 weerspieël.

**Tabel 23: Gemiddelde plasma progesteron waardes van die 4 toetsgroepe (nmol/l)**

Groep	n	Gemiddeld	Verskil van groep	Standaard-afwyking	Minimum	Maksimum
1	33	5,674	2	4,844	0,167	17,776
2	34	2,901	1,4	2,756	0,219	10,900
3	34	4,285		2,881	0,180	11,740
4	33	5,603	2	3,419	0,169	11,286



**Fig. 16: Bek-en-snorgrafiek van die plasma progesteron waardes van die vier toetsgroepe (nmol/l)**

Daar was geen invloed van gemiddelde progesteron konsentrasie op die dag van oorplasing op die dragtigheidstempo van die ontvangers nie (Tabel 24).

**Tabel 24: Die gemiddelde plasma progesteron waardes van die dragtige teenoor die nie-dragtige ontvangers (nmol/l)**

Dragtig?	n	Gemiddeld	Standaardafwyking	Minimum	Maksimum
Ja	30	5,371	4,291	0,219	17,776
Nee	46	5,124	4,032	0,210	17,555

#### 4.6.3 Progesteron plasmavlakke en ander parameters

Op individuele basis was daar 'n betekenisvolle korrelasie tussen retinol plasmavlakke en progesteron plasmavlakke ( $P=0,0317$ ). Progesteron plasmavlakke was egter nie gekorreleer met  $\beta$ -karoteen plasmavlakke ( $P=0,6860$ ), dragtigheid ( $P=0,7996$ ) of met corpus luteum grootte ( $P=0,4312$ ) nie.

## 4.7 KONDISIE

### 4.7.1 Kondisie en kondisietoename van die ontvangers

Oor die periode van 44 dae voor die oorplantingsweek tot 14 dae daarna het die gemiddelde kondisie van al die groepe met ten minste een graderingspunt gestyg (gradering 1 tot 5) (Tabel 25). Die gemiddelde toename van die groepe het nie statisties van mekaar verskil nie ( $P=0,8023$ ). Die gemiddelde toename van al die ontvangers was 1,32 graderingspunte. Die gemiddelde kondisie van Groep 1 tydens die oorplantingsweek was egter betekenisvol hoër as dié van die ander groepe ( $P=0,0000$ ) (Tabel 25). Die gemiddelde kondisie van al die diere gedurende dié tyd was 3,40.

Daar was egter nie 'n aanduiding van 'n verband tussen ontvanger kondisie en dragtigheid ( $P=0,3278$ ) en ontvanger kondisie toename en dragtigheid nie ( $P=0,8932$ ). Daar was wel 'n positiewe korrelasie tussen kondisie toename en estruslengte ( $R^2=0,02995$ ,  $n = 130$ ,  $P=0,0490$ ).

**Tabel 25: Gemiddelde kondisietoename en kondisie van die vier toetsgroepe tydens embryo-oorplasing**

Groep	n	Gemiddelde kondisietoename	Gemiddelde kondisie gradering	Standaard-afwyking
1	33	1,47	3,83*	0,102
2	34	1,03	3,31	0,100
3	34	1,31	3,22	0,100
4	34	1,47	3,25	0,100

Die \* dui die gemiddelde aan wat, volgens Fisher se meervoudige vergelykingsprosedure, beduidend van al die ander verskil.

## 4.8 ESTRUSLENGTE EN TYDPERK VANAF PROSTAGLANDIEN-TOEDIENING TOT ESTRUS

### 4.8.1 Estruslengte en die tydsduur vanaf prostaglandien-toediening tot estrus binne groepsverband

Daar was geen statistiese verskille tussen die groepe met betrekking tot estruslengte of die tydsduur tussen prostaglandientoediening en estrus nie. Die gemiddelde estruslengte was 21.44 uur en die gemiddelde tydsduur tussen prostaglandientoediening en estrus was 29.03 uur. Tabel 26 dui hierdie gemiddeldes aan.



**Tabel 26: Die gemiddelde tydsduur tussen prostaglandien-toediening en estrus en die gemiddelde estruslengte van die vier toetsgroepe (uur)**

Groep	n	Gemiddelde interval PG-Estrus	Standaard- afwyking	Gemiddelde estruslengte	Standaard- afwyking
1	33	32,45	3,22	20,30	2,66
2	33	29,42	3,22	16,84	2,66
3	34	26,94	3,18	25,53	2,63
4	33	28,39	3,22	23,01	2,66

#### **4.8.2 Estruslengte en die tydsduur vanaf prostaglandien-toediening tot estrus buite groepsverband**

Op individuele basis was die  $\beta$ -Karoteen plasmavlak betekenisvol positief gekorreleer met beide estruslengte en die tydsduur tussen prostaglandien-toediening en estrus. Die korrelasie tussen  $\beta$ -karoteen plasmavlak en estruslengte en die tydsduur van prostaglandientoediening was  $R^2=0,04649$ , ( $n = 132$ ,  $P=0,0130$ ) en  $R^2=0,03581$ , ( $n = 132$ ,  $P=0,0298$ ) respektiewelik. Die estruslengte en tydsduur tussen prostaglandientoediening en estrus was ook hoogs betekenisvol gekorreleer  $R^2=0,47539$ , ( $n = 133$ ,  $P=0,0000$ ). Soos genoem in paragraaf 4.7.1 was daar ook 'n positiewe korrelasie tussen kondisietoename en estruslengte ( $P=0,0490$ ).

#### **4.9 CORPUS LUTEUM EVALUASIE**

Die groottes van die corpora lutea is net voor die oorplasing op 'n skaal van 1 tot 4 gevalueer met 4 die grootste. Die ontvangers met die grootste corpora lutea het voorkeur gekry om embryos te ontvang. Daar was geen verband tussen corpus luteum grootte en dragtigheid of progesteroonvlakke nie. Daar was wel 'n betekenisvolle korrelasie tussen beide die toediening van Se ( $P=0,0331$ ) en RBS GSH-Px aktiwiteit ( $P=0,0445$ ) en corpus luteum groottes.

## HOOFSTUK 5 BESPREKING

### 5.1 BLOEDVLAKKE

#### 5.1.1 RBS GSH-Px aktiwiteit

Die toediening van selenium het 'n betekenisvolle styging in die RBS GSH-Px aktiwiteit teweeggebring ( $P < 0,0000$ ) wat ooreenstem met die bevindings van ander werkers<sup>4,103,108</sup>. Selenium was 44 en 17 dae voor die neem van die bloedmonster toegedien, wat lank genoeg voor die oorplasing was vir die insluiting daarvan in die rooibloedselle. Volgens Thomson<sup>108</sup> neem dit 30 dae vir GSH-Px om hul t½ te bereik na die toediening van Se en 120 dae om in die RBS te piek. Die halflewe van serum selenium is ongeveer 28 dae<sup>108</sup>. Hiervan kan afgelei word dat hierdie vlakke, in teenstelling met die RBS GSH-Px aktiwiteit, hulle maksimum bereik het met die neem van die monsters. Daar kan dus aanvaar word dat die seleniumvlakke in die ander teikenorgane byvoorbeeld die ovarium<sup>18</sup> hoër was as wat die RBS GSH-Px aktiwiteit aangedui het. Die effekte hiervan is nie in berekening gebring nie.

Die mees uitstaande bevinding was die hoër RBS GSH-Px aktiwiteit wat deur  $\beta$ -karoteen toediening veroorsaak is (Fig 4). Groep 3 (Se,  $\beta$ -kar), met 'n gemiddelde waarde van  $10,75 \text{ EE} / 1 \times 10^{10} \text{ RBS}$  was betekenisvol hoër as al die ander groepe. Groep 2 ( $\beta$ -kar) se gemiddelde was  $6,61 \text{ EE} / 1 \times 10^{10} \text{ RBS}$  wat min verskil het van groep 1 (Se) met  $7,49 \text{ EE} / 1 \times 10^{10}$ . Groep 2 het betekenisvol van Groep 4 (kontrole) met  $4,51 \text{ EE} / 1 \times 10^{10} \text{ RBS}$  verskil alhoewel nie een van die twee Se ontvang het nie. Die toediening van  $\beta$ -karoteen het dus 'n duidelike verhogende effek op RBS GSH-Px gehad alhoewel die  $\beta$ -karoteen plasmavlak geen korrelasie met die RBS GSH-Px aktiwiteit getoon het nie. Die rede vir die verhoogde effek is onduidelik en is nog nie in die literatuur beskryf nie. Die invloed van  $\beta$ -karoteen is moontlik op sellulêre vlak waar dit met die vorming van GSH-Px help. 'n Verdere moontlikheid is dat dit, as deel van die antioksidatiewe stelsel, GSH-Px teen oksidasie beskerm. Dit is beskryf dat  $\alpha$ -tocoferol 'n sparende effek op die dubbelbinding van  $\beta$ -karoteen het<sup>111</sup>.

#### 5.1.2 $\beta$ -Karoteen plasmavlakke

Die lang tydperk wat die diere op afge-oeste mielielende gewei het voor die aanvang van die eksperiment was genoegsaam om hulle  $\beta$ -karoteen reserwes uit te put. Lotthamer<sup>62</sup> het bepaal dat dit 6-7 weke vir 'n bees neem om al sy  $\beta$ -karoteen reserwes uit sy sisteem te onttrek. Met die aanvang van die eksperiment het al die diere 'n goeie kwaliteit *Eragrotis curvula* hooi asook 'n kragvoer wat onder andere mielies bevat het, waarvan in beide gevalle die  $\beta$ -karoteeninhoud onbekend was, ontvang. Die  $\beta$ -karoteen plasmavlakke sou dus binne 'n week in al die diere na hierdie verandering begin styg het<sup>1</sup>. Desnieteenstaande was die addisionele byvoeging van  $\beta$ -karoteen betekenisvol gekorreleer met verhoogde plasmavlakke ( $P=0,0003$ ). Hierdie bevinding is in ooreenstemming met dié van verskeie ander studies<sup>1,62,65,115</sup>. Die diere wat  $\beta$ -karoteen ontvang het se gemiddelde plasmavlakke was  $9,83 \mu\text{mol/l}$  teenoor die  $8,62 \mu\text{mol/l}$  van dié wat niks ontvang het nie. Die groepe se gemiddeldes het ook betekenisvol van mekaar verskil ( $P=0,0021$ ). Groepe 2 en 3 met  $10,13 \mu\text{mol/l}$  en  $9,52 \mu\text{mol/l}$  onderskeidelik, was die hoogste. Groepe 1 en 4 was heelwat laer met  $8,73 \mu\text{mol/l}$  en  $8,50 \mu\text{mol/l}$  (Fig 6). Die laer waarde van Groep 3 teenoor dié van Groep 2 kan moontlik as gevolg van die omskakeling van  $\beta$ -karoteen na retinol verklaar word aangesien retinol se vlakke vir dié groep die hoogste van al die groepe was.

Andersyds kon dit moontlik 'n selenium-invloed op  $\beta$ -karoteen opname deur weefsel wees aangesien<sup>42</sup> hierdie groep ook die hoogste GSH-Px gehad het. Indien daar 'n sparende effek van  $\alpha$ -tocoferol op  $\beta$ -karoteen is<sup>11</sup> sou die verwagting wees dat groep 3 se waarde hoër as groep 2 s'n sou wees as gevolg van die addisionele vit E wat die groep ontvang het. Dit was egter nie die geval nie.

### 5.1.3 Retinol plasmavlakke

Die toediening van selenium was positief gekorreleer met die retinol plasmavlakke ( $P=0,0678$ ) en die RBS GSH-Px aktiwiteit betekenisvol positief gekorreleer met die retinol plasmavlakke ( $P=0,041$ ). Dit stem ooreen met Buchannen-Smith<sup>17</sup> se bevinding in skape waar 'n verhoging in plasma vit A verkry is met vit E/Se toediening. Verder was dit opmerklik om te sien dat die gemiddelde retinol plasmavlakke van die groepe in dieselfde verhouding as die gemiddelde RBS GSH-Px aktiwiteit in die ooreenstemmende groepe van mekaar verskil het (Fig 11).

Dit kom dus voor of GSH-Px betrokke kan wees by die omskakeling van  $\beta$ -karoteen na retinol. 'n Moontlike verduideliking van die observasie is dat die  $\beta$ -karoteen splitsende ensiem, karotenase, deur GSH-Px teen oksidasie beskerm word. Daar blyk dus 'n aanduiding van 'n verband tussen RBS GSH-Px en retinol plasmavlakke in die bees te bestaan.

Lotthamer<sup>91</sup> het na gesamentlike toediening van  $\beta$ -karoteen (0,3 mg/kg) en vit A (100 IE) 'n hoër vit A serum vlak gevind as na die toediening van 'n dubbel dosis vit A (220 IE) alleen. Dit stem nie ooreen met die resultate wat in hierdie studie verkry is nie. Groep 3 het 'n verhoging in plasma retinol getoon terwyl Groep 2, wat die hoogste plasma  $\beta$ -karoteen van die twee gehad het, se plasma retinol waarde nie naastenby dieselfde was as dié van die groepe wat geen  $\beta$ -karoteen ontvang het nie. Die verhogende effek van  $\beta$ -karoteen op retinol in groep 3 kan moontlik deur die verhoogde RBS GSH-Px aktiwiteit wat weer deur die  $\beta$ -karoteen toediening veroorsaak was, toegeskryf word. Daar was geen aanduiding van 'n verband tussen plasma  $\beta$ -karoteen vlakke en plasma retinol vlakke nie. Alhoewel nie betekenisvol, was daar tog 'n aanduiding van 'n verband tussen die toediening van  $\beta$ -karoteen alleen en die retinol plasmavlak ( $P=0,0835$ ). Dit sluit aan by ander werkers se bevindinge wat ook geen betekenisvolle verhoging van vit A kon kry met  $\beta$ -karoteen toediening waar die diere genoegsame vit A in hulle sisteem gehad het<sup>14</sup>.

Korrelasies tussen  $\beta$ -karoteen en retinol was dus laer as die korrelasies tussen GSH-Px en retinol.

### 5.1.4 $\alpha$ -Tocoferol plasmavlakke

$\alpha$ -Tocoferol was saam met selenium vir Groepe 1 en 3 toegedien. Daar was 'n gepaardgaande positiewe korrelasie tussen vit E/Se toediening en  $\alpha$ -tocoferol plasmavlakke ( $P=0,0033$ ). Daar was egter geen korrelasie tussen die RBS GSH-Px aktiwiteit en die  $\alpha$ -tocoferol plasmavlakke nie. Indien  $\alpha$ -tocoferol 'n rol gespeel het in die verhoogde RBS GSH-Px aktiwiteit, verduidelik dit nie die relatiewe hoë vlak van laasgenoemde in Groep 2 nie.

Die gemiddelde plasma  $\alpha$ -tocoferol en plasma  $\beta$ -karoteen van die verskillende groepe het baie van mekaar verskil en kan duidelik deur vergelyking van Fig 6 en Fig 8 gesien word. Die gemiddelde waardes van beide  $\alpha$ -tocoferol en  $\beta$ -karoteen was hoog in die groepe waar hulle toegedien is,  $\alpha$ -tocoferol in Groepe 1 en 3, en  $\beta$ -karoteen in Groepe 2 en 3. Die twee vitamieë het geen positiewe effek op

mekaar se plasmavlakke nie. Tog was die  $\alpha$ -tocoferol en  $\beta$ -karoteen plasmavlakke betekenisvol positief met mekaar gekorreleer ( $P=0,0001$ ). Hierdie positiewe effek is in ooreenstemming met die bevinding van Urbach *et al*<sup>111</sup>.

## 5.2 ESTRUSLENGTE EN TYDSDUUR TUSSEN PROSTAGLANDIEN-TOEDIENING EN ESTRUS

Alhoewel daar nie verskille tussen die groepe was ten opsigte van estruslengte en die tydsduur tussen protaglandien toediening en estrus nie, was  $\beta$ -karoteen betekenisvol met beide estruslengte ( $P=0,0130$ ) en die tydsduur van prostaglandientoediening en estrus, gekorreleer ( $P=0,0298$ ). Dit is in ooreenstemming met Wang<sup>115</sup>, wat gevind het dat die diere wat  $\beta$ -karoteen ontvang het, langer neem om op hitte te kom na protaglandientoediening. Die rede hiervoor is onbekend. 'n Moontlike verduideliking is die progesteron vlak voor prostaglandientoediening asook die tempo van luteolise van die corpus luteum<sup>115</sup>. Die verlengde hitte van die diere met hoër  $\beta$ -karoteen waardes is in teenstelling met Lotthamer<sup>62</sup> wat gevind het dat diere met 'n  $\beta$ -karoteen tekort, lang swak hittedoon.

## 5.3 CORPORA LUTEA

Die rede hoekom daar in hierdie proef nie 'n korrelasie tussen progesteronvlakke en corpus luteum groottes was nie ( $P=0,04312$ ) kan wees dat die onderlinge evaluasies op verskillende dae gedoen was. Daar is beskryf dat Se in die ovaria voorkom<sup>19</sup> maar hoekom RBS GSH-Px in plaas van  $\beta$ -karoteen betekenisvol met corpus luteum grootte gekorreleer was, is nie duidelik nie. Die verhoogde effek van RBS GSH-Px op plasma retinol laat die gedagte ontstaan dat GSH-Px soortgelyke verhoogde retinol vlak in die corpus luteum tot gevolg kan hê en moontlik tot 'n verhoogde progesteronvlak sou kon lei.

## 5.4 DRAGTIGHEIDSTEMPO

Daar was geen statistiese verskille tussen die dragtigheidstempo van die verskillende groepe nie. Groep 1 het die hoogste tempo van 50% gehandhaaf gevolg deur Groep 2 met 47,4%, Groep 3 met 31,6% en Groep 4 met 27,8%. Tog is dit noemenswaardig dat Groep 4 as negatiewe kontrole gedien het. Die diere was almal in 'n goeie kondisie (3,40 gemid) sowel as in 'n stygende kondisie van 1,32 gemiddeld oor die tyd van selenium en  $\beta$ -karoteen toediening (Tabel 25). Kondisie kon dus geen negatiewe effekte op konsepsie tempo gehad het nie. Segerson<sup>94</sup> het met 'n voldoende voedingsvlak alleen tydens embrio herwinning hoë bevrugtingstempo van embrios gekry. Toediening van vit E/Se gepaard met 'n onvoldoende voedingsvlak kon nie dieselfde vlak bewerkstellig nie.

### 5.4.1 Selenium en dragtigheid

Daar was geen aanduiding van 'n verband tussen die RBS GSH-Px aktiwiteit en dragtigheidstempo nie. Binne elke groep was die aktiwiteit van die dragtige diere feitlik dieselfde as die aktiwiteit van die nie-dragtige diere (Tabel 14). Van die 76 diere wat embrios ontvang het was die RBS GSH-Px aktiwiteit van die dragtige diere  $7,27 \text{ EE } /1 \times 10^{10}$  RBS teenoor  $7,65 \text{ EE } /1 \times 10^{10}$  RBS van die nie-dragtiges. Die dragtige diere se gemiddelde aktiwiteit was dus laer, hoewel nie betekenisvol nie. Verder was die aktiwiteit van die dragtige diere in 'n nouer band op 'n laer vlak gekonsentreer (Fig 12). Dit kan 'n aanduiding wees dat konsepsies meer gereedelik plaasvind by 'n laer tog voldoende RBS GSH-Px aktiwiteit. Alhoewel die

getalle klein is, wil dit dus voorkom of daar optimale RBS GSH-Px aktiwiteit vir konsepsie bestaan het. Dit word ondersteun deur die groep dragtigheide. Groep 1 en 2 met 'n "laer" RBS GSH-Px aktiwiteit het die beste konsepsies gehad terwyl Groep 3, met 'n baie hoë, en Groep 4, met 'n baie lae RBS GSH-Px aktiwiteit, die laagste konsepsies getoon het (Tabel 14). Die toediening van  $\beta$ -karoteen kan dus lei tot 'n verhoogde konsepsie in diere met 'n lae RBS GSH-Px aktiwiteit teenoor 'n verlaagde konsepsie in diere met 'n voldoende RBS GSH-Px aktiwiteit. Folman<sup>31</sup> het 'n negatiewe korrelasie van aantal inseminasies per konsepsie sowel as dragtigheistempo in ouer koeie met  $\beta$ -karoteen toediening gevind. Die plasma  $\beta$ -karoteen in sy studie was 0,1 mg/100 ml en na aanleiding van sy vorige studies, te hoog. Tog was dit laer as die aanbevole minimum vlakke van 0,2 mg/100 ml. Die vraag ontstaan of hierdie negatiewe effek direk of indirek via  $\beta$ -karoteen se uitwerking op selenium (RBS GSH-Px) is.

#### 5.4.2 $\beta$ -Karoteen en dragtigheid

Soos met selenium was daar geen betekenisvolle korrelasies tussen die toediening van  $\beta$ -karoteen ( $P=1.0000$ ) asook  $\beta$ -karoteen plasmavlak ( $P=0,4988$ ) en dragtigheidstempo nie. Die gemiddelde waarde van die dragtige diere teenoor dié van die nie-dragtige diere binne die groepe het min van mekaar verskil (Tabel 17). Slegs in Groep 3 was die gemiddeldes van die dragtige diere betekenisvol hoër as dié van die nie-dragtige diere (Tabel 18). Alhoewel die gemiddeldes van al die dragtige diere 9,53  $\mu\text{mol/L}$  nie betekenisvol van die nie-dragtige diere 9,2  $\mu\text{mol/L}$  verskil het nie, was dit tog hoër.

Soos in die geval van RBS GSH-Px aktiwiteit het die gemiddelde  $\beta$ -karoteen waardes van die dragtige diere ook in 'n nouer band as dié van die nie-dragtiges gelê (Fig 15) maar dié keer aan die hoër kant. Die neiging in dié geval was dus dat 'n hoër plasma  $\beta$ -karoteen waarde nodig was 'n hoër konsepsiesyfer. Alhoewel Groep 2 die hoogste gemiddelde waarde teenoor 'n baie lae waarde van Groep 1 getoon het, was die groepe se konsepsiesyfer min of meer dieselfde. So was daar 'n redelike konsepsie verskil tussen Groep 2 en 3 terwyl beide hoë plasma  $\beta$ -karoteen waardes gehad het. Laasgenoemde het ook 'n baie hoë RBS GSH-Px aktiwiteit gehad. Dit kan dus gesê word dat daar 'n baie noue samewerking tussen plasma  $\beta$ -karoteen waardes en RBS GSH-Px aktiwiteit is. Waar beide hoog was in dieselfde diere was die konsepsie swak. Uit die literatuur blyk dit dat verhoogde vrugbaarheidsindekse met  $\beta$ -karoteen byvoeding eers bereik word wanneer die diere se liggaamsreserwes uitgeput is<sup>37, 50, 62</sup>. Waar vlakke bo 0,2 mg/100 ml voor  $\beta$ -karoteentoediening was, kon geen voordeel met die byvoeging van  $\beta$ -karoteen verkry word nie<sup>5, 28, 115</sup>. Tog het Folman<sup>31</sup> positiewe vrugbaarheidsindekse by baie lae vlakke verkry deur die plasmavlakke van 0,02 tot 0,04 mg /100 ml te verhoog en negatiewe effekte waargeneem waar die vlakke rondom 0,1 mg/100 ml was. Die verskille tussen hierdie studie en dié van laasgenoemde navorser kan moontlik as gevolg van verskillende  $\beta$ -karoteen bepaling metode toegeskryf word. Aan die anderkant was in hierdie studie die invloed van  $\beta$ -karoteen op RBS GSH-Px vasgestel. RBS GSH-Px was glad nie deur Folman in hulle studie bepaal nie. Die negatiewe effek kon eerder as gevolg van 'n te hoë of 'n te lae RBS GSH-Px aktiwiteit as 'n 'verkeerde'  $\beta$ -karoteen waarde wees.

Daar word tot die gevolgtrekking gekom dat die konsepsiesyfer van die 4 groepe 'n baie goeie weerspieëling van die samewerking en teenwerking van  $\beta$ -karoteen en RBS GSH-Px aktiwiteit teenoor mekaar is.



## 5.5 PROGESTEROON

Progesteron bepaling was op bloedmonsters wat in die middel van die oorplantingsweek geneem was, gedoen. Koeie wat vir Dag 1 of Dag 5 vir oorplantings gesinkroniseer was, was dan onderskeidelik op Dag 9 of Dag 5 van hulle estrussiklus toe die bloedmonsters geneem is. Statisties het die gemiddeldes van die verskillende siklus dae nie van mekaar verskil nie. Tog was die waardes van koeie wat die verste in hulle siklus gevorder het die hoogste (Tabel 21). As gevolg hiervan het ons die diere wat op dieselfde dag van hulle estrussiklus was met mekaar vergelyk. Op elk van die oorplantingsdae was Groep 2 se progesteron waarde die laagste en op Dag 3 (Tabel 22) was dit betekenisvol laer as dié van al die ander groepe. Groep 3 was net op Dag 2 (Tabel 22) nie die tweede laagste nie. So ook was die totale groepsgemiddelde progesteron waarde van Groep 2 en 3 die laagste en Groep 2 het betekenisvol van Groepe 1 en 4 verskil (Tabel 23 en Fig 16). Dus was die  $\beta$ -karoteen behandelingsgroepe se progesteron waardes die laagste van die vier groepe. Groep 2 se plasma  $\beta$ -karoteen was betekenisvol hoër as dié van Groepe 1 en 4 terwyl die plasma progesteron vlak betekenisvol laer was as dié van hierdie twee groepe. Op grond hiervan wil dit voorkom of  $\beta$ -karoteen 'n negatiewe effek op progesteron produksie het. Graves-Hoagland<sup>38</sup> het soortgelyke negatiewe effekte op progesteron produksie, waar groot dosisse  $\beta$ -karoteen toegedien was, gekry.

Op individuele basis was daar geen aanduiding van 'n verband tussen plasma  $\beta$ -karoteen en plasma progesteron waardes nie ( $P=0,6860$ ). Daar kan geredeneer word dat  $\beta$ -karoteentoediening 'n indirekte effek deur Se of deur GSH-Px op progesteron produksie kan hê.  $\beta$ -Karoteen toediening was betekenisvol gekorreleer met RBS GSH-Px aktiwiteit ( $P<0,0000$ ) en RBS GSH-Px was weer betekenisvol met retinol plasmavlakke ( $P=0,0431$ ) en met corpus luteum grootte ( $P=0,0445$ ) gekorreleer. Retinol self was betekenisvol met progesteronvlakke gekorreleer ( $P=0,0317$ ) terwyl vit A se belangrikheid in die produksie van die CSCC ensiem wat benodig word vir progesteron produksie, bekend is<sup>54</sup>. Hierdie indirekte effek sou ook vir Se-toediening geld.

## 5.6 GEVOLGTREKKINGS

1. Die toediening van  $\beta$ -karoteen het 'n verhogende effek op RBS GSH-Px aktiwiteit gehad. Die gesamentlike toediening van  $\beta$ -karoteen en Se word bevraagteken na aanleiding van die RBS GSH-Px aktiwiteite en die dragtigheidstempos.
2. RBS GSH-Px was betekenisvol met die retinol plasmavlakke asook met corpus luteum grootte gekorreleer. Die betrokkenheid van Se in die omskakeling van  $\beta$ -karoteen na retinol word voorsien.
3. Retinol plasmavlakke was op individuele basis betekenisvol met progesteronvlakke gekorreleer.
4.  $\beta$ -Karoteen het in die vroeë fase van die estrussiklus negatief op progesteronproduksie ingewerk. Die groepe wat  $\beta$ -karoteen ontvang het, het deurgaans die laer progesteronvlakke gehad.
5.  $\beta$ -Karoteen en  $\alpha$ -tocoferol plasmavlakke was positief met mekaar gekorreleer.
6. Die tydsduur tussen prostaglandientoediening en estrus en die lengte van estrus was langer in  $\beta$ -karoteenbehandelde diere.



7. Daar is aanduidings dat RBS GSH-Px aktiwiteit en retinol plasmavlakke aan dragtigheidstempo gekoppel is. Die hoogste konsepsies was in dié groepe waar die gemiddelde waardes in die middel gelê het, gevind, terwyl die laagste konsepsies, in die groepe wat die hoogste en die laagste gemiddelde waardes gehad het, gevind is. Geeneen van die twee was betekenisvol gekorreleer met dragtigheid nie.

## HOOFSTUK 6 OPSOMMING

### DIE INVLOED VAN SELENIUM EN $\beta$ -KAROTEENTOEDIENING OP GESELEKTEERDE PLASMAPARAMETERS EN DIE DRAGTIGHEIDSYFER VAN ONTVANGERKOEIE TYDENS EMBRIO-OORPLASING

deur

**FLORIS JOHANNES BRUWER**

Promotor: Prof H.J. Bertschinger

Departement Geslagskunde  
Fakulteit Veeartsenykunde  
Universiteit van Pretoria

Voorgelê ter gedeeltelike vervulling van die vereistes vir die graad:

**MMedVet(Gyn)**

Hierdie studie het ten doel gehad om die effekte van Se en  $\beta$ -karoteentoediening op vit A, vit E, konsepsietempo en progesteroonvlakke tydens embryo-oorplasing in ontvangerkoeie te ondersoek. Die effekte van die verskillende faktore op mekaar sou ook bepaal word.

'n Totaal van 142 multipare koeie wat in vier groepe verdeel is, was as ontvangers vir die studie gebruik. Die groepe was as volg behandel: Groep 1 (35 koeie), 50 mg Se en 1500 mg vit E intramuskulêr 6 en 3 weke voor die oorplasing; Groep 2 (36 koeie), 300 mg  $\beta$ -karoteen per os per bees per dag vanaf 6 weke voor die oorplasing; Groep 3 (36 koeie), vit E/Se en  $\beta$ -karoteen soos in Groepe 1 en 2 respektiewelik; Groep 4 (35 koeie) negatiewe kontrole groep met geen behandeling nie. Elke ontvanger het 6 weke voor oorplasing vit ADE oraal ontvang. Embrios is na 20, 19, 19 en 18 ontvangers van Groepe 1, 2, 3 en 4 onderskeidelik oorgeplaas. Bloedmonsters is van elke dier vir ontledings in die middel van die oorplantingsperiode getrek.

Die toediening van Se was hoogs betekenisvol met RBS GSH-Px aktiwiteit gekorreleer  $R^2 = 0,32960$ , ( $n = 136$ ,  $P = 0,0000$ ). Die toediening van  $\beta$ -karoteen was ook hoogs betekenisvol gekorreleer met die RBS GSH-Px aktiwiteit,  $R^2 = 0,18950$ , ( $n=136$ ,  $P < 0,0000$ ). Die RBS GSH-Px aktiwiteit was 7,49, 6,61, 10,75 en 4,5 EE / $1 \times 10^{10}$  RBS vir Groepe 1, 2, 3 en 4 onderskeidelik. Groepe 1 en 3, 1 en 4, 2 en 3, 2 en 4, en 3 en 4 het betekenisvol van mekaar verskil maar nie Groepe 1 en 2 nie. Daar was geen verband tussen  $\beta$ -karoteen plasmavlakke en RBS GSH-Px aktiwiteit nie.

Die orale toediening van  $\beta$ -karoteen het plasmavlakke duidelik laat styg en was betekenisvol met die  $\beta$ -karoteen plasmavlakke gekorreleer  $R^2 = 0,09296$ , ( $n = 134$ ,  $P=0,0003$ ). Die groepe wat  $\beta$ -karoteen ontvang het, Groepe 2 en 3, se plasmavlakke was merkbaar hoër as dié van Groepe 1 en 4 wat niks ontvang het nie. Die groep se waardes was 8,72, 10,13, 9,53 en 8,50  $\mu\text{mol}/\ell$  vir Groepe 1, 2, 3



en 4 respektiewelik. Groepe 1 en 2, 2 en 4, en 3 en 4 het betekenisvol van mekaar verskil ( $P=0,0021$ ) maar nie Groepe 1 en 3, en 1 en 4 nie.

Daar was 'n positiewe korrelasie tussen die toediening van vitE/Se en die  $\alpha$ -tocoferol plasmavlakke,  $R^2 = 0,06344$ , ( $n = 134$ ,  $P=0,0033$ ). Daar was egter geen aanduiding van 'n verband tussen RBS GSH-Px aktiwiteit en  $\alpha$ -tocoferol plasmavlakke nie. Daar was wel 'n betekenisvolle korrelasie tussen  $\alpha$ -tocoferol en  $\beta$ -karoteen plasmavlakke ( $P=0,0001$ ). Die groepswaardes was 11,90, 10,59, 11,67 en 10,56 vir Groepe 1, 2, 3 en 4 onderskeidelik. Groepe 1 en 2, en 1 en 4 het betekenisvol van mekaar verskil ( $P=0,0334$ ) maar nie die ander groepe, Groepe 1 en 3, 2 en 3, 2 en 4, en 3 en 4 nie.

Die korrelasie tussen die toediening van Se en die retinol plasmavlakke was nie statisties betekenisvol nie ( $P=0,0671$ ) maar tussen RBS GSH-Px aktiwiteit en retinol plasmavlakke was dit wel betekenisvol  $R^2 = 0,03086$ , ( $n = 133$ ,  $P=0,0431$ ). Daar was ook 'n waarskynlike korrelasie tussen die toediening van  $\beta$ -karoteen en die retinol plasmavlak ( $P=0,0835$ ) maar geen korrelasie tussen  $\beta$ -karoteen plasmavlakke en retinol plasmavlakke nie. Die groepwaardes was 1,068, 1,065, 1,154 en 1,026  $\mu\text{mol}/\ell$  vir Groepe 1, 2, 3 en 4 onderskeidelik.

Die dragtigheidstempo na die oorplasing van embryos was 50,0%, 47,4%, 31,5% en 27,8% vir Groepe 1, 2, 3 en 4 onderskeidelik. Die verskille was nie betekenisvol nie.

Daar was 'n negatiewe korrelasie tussen die  $\beta$ -karoteen plasmavlakke en progesteron plasmavlakke vir die eerste 5-9 dae van die estrus siklus. Retinol plasmavlakke en progesteron plasmavlakke was wel positief gekorreleer ( $P=0,0317$ ). Die groepswaardes was 5,67, 2,90, 4,28 en 5,60  $\mu\text{mol}/\ell$  vir Groepe 1, 2, 3 en 4 onderskeidelik. RBS GSH-Px was betekenisvol gekorreleer met corpus luteum grootte maar corpus luteum grootte was nie met progesteron waardes gekorreleer nie.

Daar was geen statistiese verskille tussen die groepe ten opsigte van estruslengte en die tydsduur tussen prostaglandientoediening en estrus nie. Op individuele basis was daar wel 'n betekenisvolle korrelasie van  $\beta$ -karoteen plasmavlak met beide estruslengte ( $P=0,0298$ ) en die tydsduur tussen prostaglandientoediening en estrus ( $P=0,0130$ ). Estruslengte en die tydsduur tussen prostaglandien en estrus was ook betekenisvol met mekaar gekorreleer ( $P < 0,0000$ ).

## CHAPTER 6 SUMMARY

### THE INFLUENCE OF SELENIUM AND $\beta$ -CAROTENE ADMINISTRATION ON SELECTED PLASMA PARAMETERS AND PREGNANCY RATES OF RECIPIENT COWS DURING EMBRYO TRANSFER

by

**FLORIS JOHANNES BRUWER**

Promoter: Professor H.J. Bertschinger

Department of Reproduction  
Faculty of Veterinary Science  
University of Pretoria

Submitted in partial fulfilment of the requirements for the degree of:

**MMedVet(GYN)**

This study addressed some of the effects that selenium and  $\beta$ -carotene administration have on vit A, vit E, conception rates, progesterone levels, oestrus length, interval from PG to oestrus and corpus luteum size in embryo recipients.

A total of 142 multiparous cows assigned to 4 test groups, were used as recipients in this study. Group 1 (35 cows) received 50 mg Se and 1500 mg vit E intramuscularly 6 and 3 weeks before transfer, Group 2 (36 cows) received 300 mg  $\beta$ -carotene orally per cow per day starting 6 weeks prior to transfer, Group 3 (36 cows) received both vit E / Se and  $\beta$ -carotene as per Group 1 and 2 and Group 4 (35 cows) was a negative control, with no treatment. All recipients received vit ADE orally 6 weeks before transfers. Embryos were transferred to 20, 19, 19, and 18 recipients of the Groups 1, 2, 3 and 4 respectively. Blood for analysis was drawn from all the recipients in the middle of the transferal week, being day 3 of the 5-day period.

The administration of selenium was highly significantly correlated with the corresponding RBS GSH-Px activity  $R^2 = 0,3290$ , ( $n = 135$ ,  $P < 0,0000$ ). The  $\beta$ -carotene administration was also highly significantly correlated with the RBS GSH-Px activities  $R^2 = 0,18950$ , ( $n = 136$ ,  $P < 0,0000$ ). However, there were no correlation between the  $\beta$ -carotene plasma levels and that of the RBS GSH-Px activities. The RBS GSH-Px were 7,49, 6,61, 10,75 and 4,5 Enzyme Units / $1 \times 10^{10}$  RBS for Groups 1, 2, 3 and 4 respectively. Groups 1 and 3, 1 and 4, 2 and 3, 2 and 4, and 3 and 4 differ significantly from each other but not Groups 1 and 2. There were no connection between  $\beta$ -carotene plasma levels and RBS GSH-Px activities.

The treatment of  $\beta$ -carotene itself was successful and was significantly correlated with the resulting  $\beta$ -carotene plasma levels  $R^2 = 0,09296$ , ( $n = 134$ ,  $P = 0,0033$ ). The  $\beta$ -carotene plasma levels of the groups that received  $\beta$ -carotene, Groups 2 and 3, were noticeably higher than those of Group 1 and 4, which did not receive  $\beta$ -carotene. The values were 8,72, 10,13, 9,53 and 8,5  $\mu\text{mol/l}$  for Groups 1, 2, 3

and 4 respectively. Groups 1 and 2, 2 and 4, and 3 and 4 differed significantly from one another ( $P = 0,0021$ ) but not those of Groups 1 and 3, and 1 and 4.

There was a positive correlation between the administration of Se and the retinol plasma levels ( $P = 0,0671$ ) and a positive significant correlation between the RBS GSH-Px and the retinol plasma levels  $R^2 = 0,03086$ , ( $n = 133$ ,  $P = 0,0431$ ). There was also a positive correlation between the administration of  $\beta$ -carotene and the retinol plasma levels ( $P = 0,0835$ ) but no correlation between  $\beta$ -carotene plasma levels and retinol plasma levels. The values were 1,068, 1,065, 1,154 and 1,026  $\mu\text{mol}/\ell$  for Groups 1, 2, 3 and 4 respectively.

The pregnancy rate after embryo transfer were 50%, 47,4%, 31,5% and 27,8% for Groups 1, 2, 3 and 4 respectively. The differences were not significant.

There was a negative correlation between  $\beta$ -carotene plasma levels and progesterone plasma levels for the first 5 to 9 days of the oestrus cycle. Retinol plasma levels however were significantly correlated with progesterone plasma levels ( $P = 0,0317$ ). The progesterone levels were 5,67, 2,90, 4,28 and 5,60  $\mu\text{mol}/\ell$  for Groups 1, 2, 3 and 4 respectively. The RBS GSH-Px activity was significantly correlated with corpus luteum size ( $P = 0,0445$ ) but corpus size was not correlated with progesterone values.

There were no statistical differences amongst the groups, between oestrus length and the interval from prostaglandin to oestrus. However on an individual basis there was a significant correlation between  $\beta$ -carotene plasma levels and both the oestrus length ( $P = 0,0298$ ) and the interval from prostaglandin to oestrus ( $P = 0,0130$ ). Oestrus length and the interval from prostaglandin to oestrus were also significantly correlated with each other ( $P < 0,0000$ ).

## VERWYSINGS

- 1 AKORDOR, F.Y., STONE, J.B., WALTON, J.S., LESLIE, K.E., BUCHANNEN-SMITH, J.G. (1986) Reproductive performance of lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci* 69:2173-2178
- 2 AHLWSEDE, L., LOTTHAMER, K.H. (1978) Untersuchungen über eine spezifische vitamin A unabhängige Wirkung des beta-karotins auf die fertilität des Rindes. *Mitteilung. Dtsch. Tierärztl. Wschr* 85, 7-12
- 3 ADAMS, G. (1985) Trace element nutrition of beef cattle. Post graduate students notes. Faculty of Veterinary Science. Univ. of Pretoria
- 4 ALLEN, W.M., PARR, W.H., ANDERSON, P.H., BERRET, S., BRADLEY, R., PATTERSON, D.S.P. (1975) Selenium and the activity of glutathione peroxidase in bovine erythrocytes. *The Veterinary Record* 19:360-361
- 5 ASCARELLI, I., EDELMAN, Z., ROSENBERG, M., FOLMAN, Y. (1985) Effect of dietary carotene on fertility of high-yielding dairy cows. *Anim. Prod.* 40:195-207
- 6 AUSTERN, B.M., GAWIENOWSKI, A.M. (1969) The isolation of retinal from the bovine corpus luteum. *J. Reprod. Fertil.* 19:203
- 7 BREMEL, D.M., HEMKEN, R.W., HEERSCHKE, L.A., EDGERSON, L.A., OLDS, D. (1982) Effects of  $\beta$ -carotene on metabolic and reproductive parameters in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 65 (Supl 1):178 (Abstr)
- 8 BAZER, F.W. (1975) Uterine protein secretions: Relationship to development of the conceptus. *J. Anim. Sci.* 41:1376-1382
- 9 BAALSRUD, K.J., OVEKNES, G. (1986) Influence of vitamin E and selenium supplement on antibody production in horses. *Equine Vet. J.* 18 6:472-474
- 10 BENDICH, ADRIANNE. (1987) The role of antioxidant AC vitamins on immune function. Roche Technical Symposium March, 1987, Daytona Beach Florida
- 11 BINDAS, E.M., GWAZDAUSKAS, F.C., AIELLO, R.J., HERBEIN, H., MCGILLIARD, M. L., POTAN, C.E. (1984) Reproductive and metabolic characteristics of dairy cattle supplemented with  $\beta$ -karoteen. *J. Dairy Sci.* 67:1249
- 12 BINDAS, E.M., GWAZDAUKAS, F.C., MCGILLIARD, M.L., POLAN, C.E., (1984) Progesterone responses to human chorionic gonadotropin in dairy cattle supplemented with  $\beta$ -carotene. *J. Dairy Sci* 67:2978-2985
- 13 BONOMI, A., QUARANTELLI, A., SABBIONI, A., SUPERECCHI, P 1994) Inclusion of protected beta-carotene in diets for dairy cows. Effect on productivity and reproductive efficiency, experimental contribution. *Rivista-della-Docieta-Italiana-di-Scienza-dell'alimentazione* 23:2, 233-249
- 14 BONSEBIANTE, M., BRITTANTE, G., ANDRIGETTO, I. (1980) Effect of  $\beta$ -carotene on fertility of cows fed diets supplemented with vitamin A. *Zootec. Nutr. Anim.* 6:47
- 15 BOYNE, R., ARTHUR, J.R. (1979) Alterations of neutrophil function in selenium deficient cattle. *J. Comp. Path.* 89:151-158
- 16 BRÜGGEMANN, Z., NIESAR, K.H. (1955) Der nachweis eines den vitamin A gehalt der milch beeinflussenden faktors im eutergewebe des rindes. *Milchwissenschaft* 10:223-225

- 17 BUCHANAN-SMITH, J.G., NELSON, E.C., OSBURN, B.I., WELLS, M.E., TILLMAN, A.D. (1969) Effects of vitamin E and selenium deficiencies in sheep fed a purified diet during growth and reproduction. *J. Anim. Sci* 29:808-815
- 18 BUCK, E.L., SCHMITZ, J.A., SWANSON, L.V. (1981) Incorporation of selenium into endocrine glands and reproductive tissues of the parturient ewe and fetus. *Selenium in biology and medicine*. Avi Publ. Co. West Port Ct
- 19 BUCK, E.L., TRIPP, M.J., SCHMITZ, J.A., SWANSON, L.V. (abstr) Preferential incorporation of Se into reproductive and placental tissues of the pregnant pygmy goat and its fetus. Oregon State University, Corvallis. 264-265
- 20 CHEW, B.P., ARCHER, R.G. (1983) Comparative role of vitamin A and  $\beta$ -carotene on reproduction and neonate survival in rats. *Theriogenology* 20(4):459-472
- 21 CHEW, B.P., HOLPUCH, D.M., 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
- 22 CHEW, B.P., RASMUSSEN, H., PUBOLS, M.H., PRESTON, R.L. (1982) Effects of vitamin A and  $\beta$ -carotene on plasma progesterone and uterine protein secretions in gilts. *Theriogenology* 18:643-653
- 23 COFFEY, R.T. (1988) Catalase, Cu/Zn-Superoxide Dismutase, Glutathione Peroxidase: Their relationship to oxygen utilization in cellular physiology, clinical and subclinical disease, nutrition and trace element utilization in livestock. *The Bovine Practitioner* 23:138-143
- 24 COLNAGO, G.L., JENSEN, L. S., LONG, P.L., (1984) Effect of selenium on peripheral blood leucocytes of chickens infected with *Eimeria*. *Poultry Science* 63:896-903
- 25 CORTESE, V. (1988) Selenium and reproductive performance in dairy cattle. *Agri Practice* vol 9 no 4, 5-7
- 26 DIMANOV, D. *Zhivotnovod Nauki* 18 (5) 117
- 27 DONALDSON, L.E. (1985) Recipients as a source of variation in cattle embryo transfer. *Theriogenology* 23(1):188
- 28 DUCKER, M.J., YARROW, N.H., GLENYS, A., BLOOMFIELD, A., EDWARDS-WEBB, J.D., (1984) The effect of  $\beta$ -carotene on the fertility of dairy heifers receiving maize silage. *Anim. Prod.* 39:9-16
- 29 EHRET, W.J., MELTZER, D.G.A., MULDER, M.S., COLLET, F.A. (1989) Erythrocyte glutathione peroxidase activity as an indicator of selenium status in an intensively-managed beef herd. *J. S.Afr. Vet. Ass.* 60:130-133
- 30 FOLMAN, Y., ASCARELLI, I., HERZ, Z., ROSENBERG, M., DAVIDSON, M., HALEVI, A., (1979) Fertility of dairy heifers given a commercial diet free of  $\beta$ -carotene. *Br. J. Nutr.* 41:353
- 31 FOLMAN, Y., ASCARELLI, I., KRAUS, D., BARASH, H., (1987) Adverse effect of  $\beta$ -carotene in diet on fertility of dairy cows. *J. Dairy Sci* 70:357-366
- 32 FRIESECKE, H. (1978) The significance of  $\beta$ -carotene in ruminant nutrition: Field results Europe. Roche Symp. London
- 33 GAWIENOWSKY, A.M., STACEWICZ-SAPUNCAKIS, M., LONGLY, R., (1974) Biosynthesis of retinal in bovine corpus luteum. *J. Lipid Res.* 15, 375-379
- 34 GAMBHIR, K.K., RAUHOTRA, G.S., WAGLE, D.S. (1976) *Nutr. Abst. and Rev.* 46:375

- 35 GANGULY, J., RAO, M.R.S., MURTHY, S.K., SARADA, K. (1980) Systemic mode of action of vitamin A. *Vitamins and hormones* 38:1-51
- 36 GENAZZANI, A.R., OLIVA, A., AURELI, L., AURELI, G. Non-surgical embryo transfer in cattle; Relationship between implantation and plasma levels of progesterone (P), 17-hydroxyprogesterone (17P) and estradiol (E2). *Cattedra di Patologia Ostetrica e Ginecologica Universita di Siena, 5300 Siena Italy*
- 37 GRAVES-HOAGLAND, R.L., HOAGLAND, T.A., WOODY, C.O. (1988) Effect of  $\beta$ -carotene and vit A on progesterone production by bovine luteal cells. *J. Dairy Sci* 71:1058-1062
- 38 GRAVES-HOAGLAND, R.L., LEE, R. (1988) The effects of  $\beta$ -carotene and vitamin A on bovine luteal function. *Dissertation Abstracts International* 48(10) 2830
- 39 GREVE, T., LEHN-JEHNSSEN, H. (1982) The effect of HCG administration on pregnancy rate following non-surgical transfer of viable bovine embryos. *Theriogenology* 17(1):91
- 40 GWAZDAUSKAS, F.C., BIBB, M.L., McMILLIARD, M.L., LINEWEAVER, J.A., (1979) Effect of prepartum selenium-vitamin E injection on time for placenta to pass and on productive functions. *J. Dairy Sci* 62:978-981
- 41 HARPER, H.A. (1975) *Review of physiological chemistry. 15th Edition.*
- 42 HARRISON, J.H., HANCOCK, D.D., CONRAD, H.R. (1984) Vitamin E and selenium for reproduction of the dairy cow. *J. Dairy Sci* 67:123-132
- 43 HARRISON, J.H., HANCOCK, D.D., ST PIERRE, N., CONRAD, H.R., HARVEY, W.R. (1986) Effects of prepartum selenium and uterine involution in the dairy cow. *J. Dairy Sci* 69:1421-1425
- 44 HEMKEN, R.W., BREMEL, D.H. (1982) Possible role of beta-carotene in improving fertility in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 65:1069-1073
- 45 HESS, D., KELLER, H., ORBELIN, B., BONFANTI, R., SCUEP, W. (1991) Simultaneous determination of retinol, tocopherols, carotenes and lycopene in plasma by means of high-performance liquid chromatography on reverse phase. *Internat. J. Vit. Nutr. Res.* 61:232-238
- 46 HIDIROGLOU, M., (1979) Trace element deficiencies and fertility in ruminants: A Review *J. Dairy Sci* 62:1195-1206
- 47 INABA, T., INOUE, A., SHIMIZU, R., NAKANO, Y., MORI, J. (1986) Plasma concentrations of progesterone, estrogens, vitamin A and  $\beta$ -carotene in cows retaining fetal membranes. *Jpn. J. Vet. Sci* 48(3):505-508
- 48 ISHAK, M.A., LARSON, L.L., OWEN, F.G., LOWRY, S.R., ERICKSON, E.D. (1983) Effects of selenium, vitamins and ration fibre on placental retention and performance of dairy cattle. *J. Dairy Sci* 66:99-106
- 49 IWANSKA, S., LEWICKI, C., RYBICKA, M. (1985) The effect of  $\beta$ -carotene supplementation on the  $\beta$ -carotene and vitamin A levels of blood plasma and some fertility indices of dairy cows. *Arch. Tierernähr. Berlin* 35:563-570
- 50 JACKSON, P.S., FURR, B.J.A., JOHNSON, C.T. (1981) Endocrine and ovarium changes in dairy cattle fed on low  $\beta$ -carotene diet during an oestrus synchronisation regime. *Research in Veterinary Science* 31:377-383
- 51 JACOBSON, S.O. (1966) Excretion of a single dose of selenium in sheep. *Acta vet. scand.* 7:226-237
- 52 JAYARAM, M., MARTHY, S.K., GANGULY, Z., (1973) Effect of vitamin A deprivation on the cholesterol side-chain cleavage enzyme activity of testes and ovaries of rats. *Biochem. J.*, 136:221-223



- 53 JORGENSON, F.P., WEGER, I. (1979) *Acata. Vet. Scand.* 20:92
- 54 KRAMER, HORST., The mode of action of  $\beta$ -carotene in cows' ovaries. Unpublished, Roche
- 55 KOLLER, D. (1981) Influence of selenium on livestock. *Modern Veterinary Practice* 62:25-27
- 56 LARSON, L.L., WANG, J.Y., OWEN, F.G., MEADER, J.E. (1983) Effect of  $\beta$ -carotene supplementation during early lactation on reproduction. *J. Dairy Sci Supl* 1:240(abstr)
- 57 LEBEDA, M., Beta-carotenemia of dairy cows. Hochschule für Veterinarmedizin, Palackeho 1-3, 612 42 Brno, CSSR
- 58 LEIBO, S. (1982) The embryology of embryo transfer. *Embryo transfer in cattle.* Editor L.E. Donaldson
- 59 LEWICKI, C.Z., MINAKOVSKI, D., GLAZER, T., IWANSKA, S. The effect of supplementing the diet with carotene and Vit A injections on the fertility and production of cows. *Animal Feeding and Food Economics Institute. Institute of Non Infectious Diseases. Agricultural and Technical University. Olsztyn. Poland.* 495-499
- 60 LINDER, G.M., WRIGHT, R.W., Jr. (1983) Bovine embryo morphology and evaluation. *Theriogenology* 20(4):407-416
- 61 LOTTHAMER, K.H., AHLWEDE, L., MEYER, H. (1976) Untersuchungen über eine spezifische, vitamin-A-unabhängige Wirkung des  $\beta$ -Carotins auf die Fertilität des Rindes. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 83:351-390
- 62 LOTTHAMER, K.H. (1978) On the importance of  $\beta$ -Carotene for the fertility of dairy cattle. *Der Tierzüchter* No 12, 20, 12:1-9
- 63 LOTTHAMER, K.H. (1979) Importance of  $\beta$ -carotene for the fertility of dairy cattle. *Feedstuffs* 51(43):16
- 64 MACHLIN, L.J., BENDICH, A. (1987) Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *FASEB Journal* 1, 6:441-445
- 65 MAREK, J.M., APPEL, L.H., HOFFMAN, C.C., MOREDICK, P.T., SWANSON, L.V. (1985) Effect of supplemental  $\beta$ -carotene on incidence and responsiveness of ovarian cyst to hormone treatment. *J. Dairy Sci* 68:71-77
- 66 McCLURE, T.J., EAMENS, G.J., HEALY, P.J. (1986) Improved fertility in dairy cows after treatment with selenium pellets. *Aus. Vet. J.* 63(5):144-145
- 67 McMURRAY, C.H. (1980) Nutritional supplies, requirements and effects of deficiencies of vitamin E and selenium. *Proceedings of the Roche Symposium, London. October 23, 1980*
- 68 McMURRAY, C.H., RICE, D.A. (1982) Vitamin E and selenium deficiency diseases. *Irish Veterinary Journal* 36:57-67
- 69 MEINEKE, B., BITTNER, W., GIPS, H. (1986) The effects of  $\beta$ -carotene on fertility in cows: Clinical and endocrinological findings. *Zuchthyg.*, 21:225-232
- 70 MEYER, B.J. (1983) Die fysiologiese basis van geneeskunde.
- 71 MILLER, R.W., HEMKEN, R.W., WALDO, D.R., MOORE, L.A. (1962) *J. Anim. Sci.* 30:984
- 72 MOORE, T. (1930) The conversion of carotene to vitamin A *in vivo*. *Biochem J.*, 24:696-702

- 73 MORROW, D., THOMAS, J.W., MAIN, R.J. (1981) Effects of Vitamin E and Selenium on peripartum diseases and fertility in dairy cattle. *The Bovine Practitioner* (16):80-81
- 74 NOCKEL, C.F. (1988) Immunoenhancing vitamins for cattle. *Agri Practice* 9(2):10-16
- 75 O'FALLON, J.V., CHEW, B.P. (1984) The subcellular distribution of  $\beta$ -carotene in the bovine corpus luteum. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 177:406-411
- 76 O'SHAUGHNESSY, P.J., WATHES, D.C., (1985) Role of lipoproteins and de-novo cholesterol synthesis in progesterone production by cultured bovine luteal cells. *J. Reprod. Fert.* 74:425-432
- 77 OLSON, J.A., HAYAISHI, O. (1965) The enzymatic cleavage of  $\beta$ -carotene into vitamin A by soluble enzymes of rat liver and intestine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 54:1364-1370
- 78 PETHES, G., HORVATH, E., KULCSAR, M., HUSZENICZA, G., SOMRJAI, G., VARGA, B., HARASZTI, J. (1985) *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
- 79 RAKES, A.H., OWENS, M.P., BRITT, J.H., WHITLOW, L.W. (1985) Effects of adding beta-carotene to rations of lactating cows consuming different forages. *J. Dairy Sci* 68:1732-1737
- 80 REIMERS, T *et al* (1991) Effects of hemolysis and storage on quantification of hormones in blood samples from dogs, cattle and horses. *Am. J. Vet. Res.* 54:1075-1080
- 81 REMSEN, L.C., ROUSEL, J.D. (1982) Pregnancy rates relating to plasma progesterone levels in recipient heifers at day of transfer. *Theriogenology* 18(3):365-372
- 82 RICE, D.A., McMURRAY, C.H., (1982) Recent information on vitamin E and selenium problems in ruminants. *Proceedings of the Roche Symposium.* London, November 11, 1982
- 83 ROCHE PRINT Beta-carotene effect on fertility of beef heifers and cows. 1-7
- 84 ROCHE PRINT  $\beta$ -Carotene in cattle reproduction.  $\beta$ -Carotene field studies in Canada and USA 1978-1980
- 85 ROCHE PRINT  $\beta$ -Carotene in cattle reproduction. Importance of  $\beta$ -carotene for the fertility of female cattle.
- 86 ROCHE PRINT Trace minerals. A1:1/1-1/6
- 87 ROSELIUS, R., ROMANOVSKI, W., HAHN, J. (1981) Ergebnisse des nicht-chirurgischen transfers mit dem gerät modell "Hanover". *Zuchthygiene* 16:87
- 88 SCHWEIGERT, F.J., RAMBECK, W.A., ZUCKER, H. (1987) Transport of  $\beta$ -carotene by the serum lipoproteins in cattle. *J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr* 57, 162-167
- 89 SCHWEIGERT, F.J., (1988)  $\beta$ -Carotin-Stoffwechsel des rindes und eine bedeutung für die fruchtbarkeit. *Uebers. Tierernährung* 16:223-246
- 90 SCHWEIGERT, F.J., RAMBECK, W.A., ZUCKNER, H., (1985)  $\beta$ -Carotene and vitamin A in the follicular development of the bovine species. in: *Follicular growth and ovulation in farm animals.* by: J.F. Roche and D. O'Callaghan Martinus Nijhoff Publishers Bordrecht/Bosten/Lancaster 1987



- 91 SCHWEIGERT, F.J., WIERICH, M., RAMBECK, W.A., ZUCKER, H., (1988) Carotene cleavage activity in bovine ovarian follicles. *Theriogenology* 30(5):923-930
- 92 SCHWEIGERT, F.J., ZUCKER, H. (1988) Concentrations of vitamin A, beta-carotene and vitamin E in individual bovine follicles of different quality. *Journal of Reproduction and Fertility*. 82(2):575-579; 27 ref
- 93 SEGERSON, E.C., GANAPATHY, S.N. (1981) Fertilization of ova in selenium / Vitamin E treated ewes maintained on two planes of nutrition. *J. Anim Sci* 51(2):386-394
- 94 SEGERSON, E.C., MURRAY, F.A., MOXON, A.L., REDMAN, D.R., CONRAD, H.R. (1977) Selenium / Vitamin E: Role in fertilization of bovine ova. *J. Dairy Sci* 60(6):1001-1005
- 95 SEGERSON, E.C., RIVIERE, T.R., BULLOCK, T.R., THIMAYA, S., GANAPATHY, S.N. (1980) Uterine contractions and electrical activity in ewes treated with selenium and vitamin E. *Biology of Reproduction* 23:1020-1028
- 96 SEGERSON, E.C., RIVIERE, G.J., DALTON, H.L., WHITACRE, M.D. (1981) Retained placenta of Holstein cows treated with selenium and vitamin E. *J. Dairy Sci* 64:1833-1836
- 97 SHALGI, R., KRAISER, P., RIMEN, A., PINTO, M., SOFERMAN, N. (1973) Proteins of human follicular fluid: The blood follicle barrier. *Fert. Steril.* 24:429-434
- 98 SIMPSON, K.L., CHICESTER, C.O. (1981) Metabolism and nutritional significance of carotenoids. *Am. Rev. Nutr.* 1:351-374
- 99 SKLAN, D. (1983) Carotene cleavage activity in the corpus luteum of cattle. *Internat. J. Vit. Nutr. Res* 53:23-26
- 100 SMITH, G.S., HATFIELD, E.E., DURLE, W.M., NEUMANN, A.L. 000(1962) *J. Anim. Sci.* 21:1013
- 101 SMITH, L.K., HARRISON, J.H., HANCOCK, D.D., TODHUNTER, D.A., CONRAD, H.R. (1984) Effect of vitamin E and selenium supplementation on incidence of clinical mastitis and duration of clinical symptoms. *J. Dairy Sci* 67:1293-1300
- 102 SRIKANDAKUMAR, A., INGRAHAM, R.H., ELLSWORTH, M., ARCHBALD, L.F., LIAO, A., GODKE, R.A. (1986) Comparison of a solid-phase, no-extraction radioimmunoassay for progesterone with an extraction assay for monitoring luteal function in the mare, bitch, and cow. *Theriogenology* 26(6):779-793
- 103 STEVENSON, J.B., OLSON, W.G., KRAEMER, R., ARCHAMBEAU, J. (1985) Serum selenium concentrations and glutathione peroxidase activities in cattle grazing forages of various selenium concentrations. *Am J. Vet Res* 46(7):1556-1560
- 104 STOWE, H.D. (1984) Beta carotene and bovine reproduction. *Continuing Education* 6(3):167-175
- 105 SZILVASSY, B. (1981) Hungarian experiences with embryo transfer in cattle. 30th international meeting on reproduction and artificial insemination, Wels Austria, Sept. 24-26
- 106 TALAVERA, F., CHEW, B.P. (1988) Comparative role of retinol, retinoic acid and  $\beta$ -carotene on progesterone secretion by pig corpus luteum *in vitro*. *J. Reprod Fert* 82:611-615

- 107 TALAVERA, F., CHEW, B.P. (1986) Retinol, retinoic acid and  $\beta$ -carotene stimulate steroidogenesis in porcine corpora lutea *in vitro*. J. Anim Sci 63 supl 1:351-352
- 108 THOMSON, K.G., FRASER, A.J., HARROP, B.M., KIRK, J.A. (1980) Glutathione peroxidase activity in bovine serum and erythrocytes in relation to selenium concentrations of blood, serum and liver. Research In Veterinary Science 28:321-324
- 109 TRINDER, N., RENTON, C.P. (1973) The relationship between the intake of selenium and vitamin E on the incidence of retained placentae in dairy cows. Vet. Rec.93:641-644
- 110 TRINDER, N., WOODHOUSE, C.D., RENTON, C.P. (1969) The effect of vitamin E and selenium on the incidence of retained placentae in dairy cows. Vet. Rec. 85:550-553
- 111 URBACH, C., HICKMAN, K., HARRIS, P.L. (1951) Effect of individual vitamins A, C, E and carotene administered at high levels and their concentration in the blood, Exp. Med. Surg. 10:7-20
- 112 VAN DER HOLST, W., TJALSMA, E.J., WONDER, C.I. (1984) Experiences with oral administration of  $\beta$ -carotene to pony mares in early spring. 35th. Annual Meeting of the European Association for Animal Production. 6 - 9 August 1984. The Hague - The Netherlands
- 113 VAN DER MERWE, Lize. (1989-1997) Statistikus. Universiteit van Stellenbosch
- 114 WANG, J.Y., LARSON, L.L., OWEN, E.G. (1982) Effect of beta carotene supplementation on reproductive performance of dairy heifers. Theriogenology 18(4):461-471
- 115 WANG, J.Y., HAFI, C.B., LARSON, L.L. (1987) Endocrine responses and estrous activity in holstein heifers fed supplemental beta-carotene. Theriogenology 29(3):731-742
- 116 WHITEHAIR, C.K. (1986) Vitamin E and selenium in cattle production. The Bovine Practitioner. November 1986, 87-90
- 117 WRIGHT, E. (1965) The distribution and excretion of ioseelenium in sheep. N.Z.J. agric. Res 8:284-291