METABOLIČKI PROFIL KRAVA PASMINE HOLSTEIN NA FARMI VRANA d.o.o.

Tašić, Franjo

Master's thesis / Diplomski rad

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of agriculture / Sveučilište Josip Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:882351

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek - Repository of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

zir.nsk.hr

Image not found or type unknown

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA

POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Franjo Tašić, apsolvent

Diplomski studij Zootehnika, smjer Specijalna zootehnika

METABOLIČKI PROFIL KRAVA PASMINE HOLSTEIN NA FARMI VRANA d.o.o.

Diplomski rad

Osijek, 2015.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA

POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Franjo Tašić, apsolvent

Diplomski studij Zootehnika, smjer Specijalna zootehnika

METABOLIČKI PROFIL KRAVA PASMINE HOLSTEIN NA FARMI VRANA d.o.o.

Diplomski rad

Osijek, 2015.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA

POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Franjo Tašić, apsolvent

Diplomski studij Zootehnika, smjer Specijalna zootehnika

METABOLIČKI PROFIL KRAVA PASMINE HOLSTEIN NA FARMI VRANA d.o.o.

Diplomski rad

Povjerenstvo za obranu diplomskog rada:

1. Prof.dr.sc. Marcela Šperanda, predsjednica
2. Doc.dr.sc. Mislav Đidara, mentor
3. Prof.dr.sc. Pero Mijić, član

Osijek, 2015.

Zahvala:

Zahvaljujem svom mentoru doc.dr.sc. Mislavu Đidari i prof.dr.sc Marceli Šperandi na pomoći i vodstvu tijekom izrade ovog istraživačkog diplomskog rada.

Zahvaljujem se vlasnicima poduzeća Vrana d.o.o. Steve Bubalo i Louise Esther Bubalo na ukazanom povjerenju. Od srca hvala!

Veliko hvala mojoj obitelji na razumjevanju i podršci tijekom studiranja.

SADRŽAJ

1. UVOD 1
2. PREGLED LITERATURE 3
2.1. Ocjena tjelesne kondicije (BCS) 3
2.2. Tjelesna temperatura 4
2.3. Disanje 4
2.4. Biokemijski pokazatelji 5
3. MATERIJAL I METODE 18
4. REZULTATI 22
5. RASPRAVA 32
6. ZAKLJUČAK 35
7. LITERATURA 36
8. SAŽETAK 40
9. SUMMARY 41
10. POPIS TABLICA 42
11. POPIS SLIKA 43
12. POPIS GRAFIKONA 44
TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA 45
BASIC DOCUMENTATION CARD 46

Popis kratica

$\bar{x}$-srednja vrijednost;

SD-standardna devijacija,

AST- aspartat aminotransferaza;

ALT- alanin aminotransferaza;

ALP- alkalna fosfataza,

GGT- gama glutamil transferaza,

NEFA- neesterificirane masne kiseline,

βHB- beta hidroksimaslačna kiselina,

GLUK- glukoza,

TP- ukupne bjelančevine,

ALB- albumini,

Fe- željezo,

KOL-kolesterol,

TGC- trigliceridi,

P- fosfor,

Ca- kalcij,

BSC – tjelesna kondicija,

t.t.- tjelesna temperatura.

1. UVOD

Određivanje biokemijskih pokazatelja je niz specifičnih pretraga koje se ponekad određuju u zajedničkom uzorku seruma cijele skupine životinja , a ponekad u serumu pojedinih jedinki. Određivanje biokemijskih pokazatelja olakšano je zbog tehnoloških napredaka na analitičkim uređajima, koji omogućavaju obavljanje višestrukih analiza u kratkom vremenskom periodu.

Pojedini parametri krvi koji su iznad ili ispod fizioloških granica prije teljenja ili neposredno nakon teljenja mogu ukazati na nastanak pojedinačnih ili skupnih postpartusnih oboljenja. Svestrano određivanje biokemijskih parametara krvi može poslužiti kao provjera zdravlja stada. Rezultate treba interpretirati zajedno sa podacima vezanim za hranidbu i menađment, te drugim čimbenicima, koji mogu utjecati na status životinja.

Značajni biokemijski pokazatelji važni za određivanje metaboličkoga statusa su: koncentracija glukoze, aktivnost aspartat aminotransferaze, aktivnost alanin aminotransferaze, aktivnost alkalne fosfataze, aktivnost gama glutamil transferaze, koncentracija neesterificiranih masnih kiselina, koncentracija β hidroksimaslačne kiseline, koncentracija ureje, koncentracija ukupnih bjelančevina, koncentracija albumina, koncentracija željeza, koncentracija kolesterola, koncentracija triglicerida, koncentracija fosfora i koncentracija kalcija u serumu.

Tablica 1. Referentne vrijednosti biokemijskih pokazetelja u serumu krava u suhostaju i početkom laktacije

Pokazatelj	Mjerna jedinica	Suhostaj (3-21 dan prije očekivanog teljenja)	Laktacija (3-30 dana nakon teljenja)
Albumini	g/l	33-37	32-36
AST	IU/l	46,5-82,6	61-103
β – hidroksimaslačna kiselina	mmol/l	0,12—0,4	0,16-0,85
Kolesterol	mmol/l	1,68-2,95	1,63-6,55
Glukoza	mmol/l	2,83-4,10	2,33-3,77
NEFA	mmol/l	0,03-0,46	0,01-,52
Ukupne bjelančevine	g/l	69-85	73-89

AST- aspartat aminotransferaza; **NEFA**- neestereficirane masne kiseline

Izvor: Van Saun R. J. (2004.)

Početak laktacije je prijelazno razdoblje u kojem dolazi do naglog povećanja potreba za hranjivim tvarima neophodnim za sintezu mlijeka pa dolazi do prilagodbe brojnih metaboličkih procesa i tjelesnih funkcija novonastalom metaboličkom naporu. Budući da proizvodnja mlijeka naglo poraste od nulte vrijednosti do količina potrebnih za prehranu teleta, a kod pasmine holstein i daleko iznad toga, uslijed smanjenoga unosa suhe tvari sama prilagodba mora biti brza. Zbog navedenih razloga, u početku laktacije vrlo je česta pojava metaboličkih poremećaja (Goff i Horst, 1997.).

Proizvodnja mlijeka visokomliječnih krava, osim za potrebe preživljavanja teleta, iskorištava se i za komercijalnu proizvodnju mlijeka. Dugotrajnim selekcijskim radom stvorene su pasmine goveda sa iznimno visokom proizvodnjom mlijeka, koja na vrhuncu laktacije dosiže prosječno 40 kg mlijeka dnevno. Laktacija se kod mliječnih krava održava iznimno dugo, prosječno 305 pa čak i do 500 dana, pri čemu se zadnji mjeseci podudaraju sa visokom steonošću, koja dodatno povećava metabolički napor. (Jenness, 1986.).

Cilj rada bio je utvrditi metabolički profil krava pasmine holstein u različitim proizvodnim razdobljima.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Ocjena tjelesne kondicije (BCS)

Ocjenjivanje tjelesne kondicije krava daje dodatne korisne informacije za poboljšanje menađmenta stada. Glavni je cilj postići optimalnu kondiciju krave u vrijeme telenja što značajno utječe na njezinu proizvodnju i zdravlje u nadolazećoj laktaciji. Tjelesna kondicija pokazuje količinu tjelesnih rezervi koju krava posjeduje u obliku masnog i manje u obliku mišićnog tkiva. Tjelesna kondicija krave rezultat je njezine proizvodnje mlijeka, konzumacije krme i sveopćeg zdravstvenog stanja. Tjelesna kondicija krava ocjenjuje se promatranjem i opipavanjem karakterističnih točaka na kravi na kojima se nakupljaju tjelesne rezerve. Tjelesna kondicija krava u stadu daje uvid u: postojeću strategiju i metode hranidbe stada,adekvatnost hranidbe u odnosu na razinu proizvodnje mlijeka krava, zdravstveno stanje pojedinačnih krava i čitavog stada. Redovitim ocjenjivanjem tjelesne kondicije uzgajivač raspolaže dodatnim informacijama, korisnim za menađment svoga stada, ponajprije u vezi hranidbe. Optimalna tjelesna kondicija krave ovisi o stadiju proizvodnog ciklusa (laktacije i suhostaja).

Pojedinačnim ocjenjivanjem tjelesne kondicije krava uzgajivač dobiva jasnu sliku statusa čitavog stada. Sustavi ocjenjivanja tjelesne kondicije krava razvijeni su da bi omogućili što preciznije i što objektivnije vrednovanje tjelesne kondicije krava. Najčešće se koristi sustav ocjena od 1 do 5, s preciznošću ocjene od 0,25 boda. Pri ocjeni tjelesne kondicije najveća pažnja posvećuje se nakupinama masnog tkiva na nekoliko specifičnih mjesta na kravi.

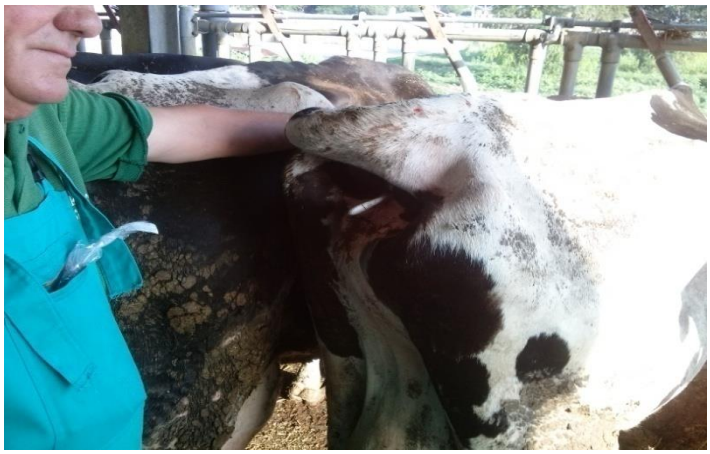
Uzgajivač formira ocjenu tjelesne kondicije krave na osnovu promatranja i opipavanja naslaga masnog tkiva. Preporučuje se da se obavlja ocjenjivanje i vodi evidencija o tjelesnoj kondiciji krava jednom mjesečno da bi se na vrijeme otkrile i spriječile neželjene pojave. Tjelesna kondicija krave smjela bi varirati tijekom proizvodnog ciklusa najviše u granicama ocjene od jednog boda (od ocjene 2,5 u prvom dijelu laktacije do ocjene 3,5 u suhostaju i u vrijeme telenja.

2.2. Tjelesna temperatura

Domaće životinje su homeotermne ili toplokrvne životinje. Tjelesna temperatura domaćih životinja neovisno o temperaturi okoline stalna je unutar određenog fiziološkog raspona (govedo 37,5 – 39,5 °C). Mjerenje tjelesne temperature kod domaćih životinja obavlja se maksimum termometrima (34 – 45 °C) kod kojih živin stupac ostaje poslije mjerenja na maksimalno dostignutoj temperaturi. Tjelesna temperatura kod domaćih životinja mjeri se u rektumu (Slika 1.). U ženskih životinja tjelesna temperatura se utvrđuje i vaginalnim mjerenjem (K.Babić i sur., 2003.).

2.3. Disanje

Kod disanja odnosno udisaja grudni koš se širi, a kod izdisaja se sužava. Mišići koji sudjeluju kod udaha nazivaju se inspiratorni, a oni koji sudjeluju kod pojačanog izdisaja, ekspiratorni mišići. Pluća su elastični organ te mogu u znatnoj mjeri mijenjati svoju veličinu, ovisno o količini zaprimljenog volumena zraka. Broj udisaja u minuti ili frekvencija disanja najpromjenjivija je karakteristika disanja a ovisi o vrsti, spolu i dobi životinje , tjelesnoj aktivnosti i vanjskoj temperaturi. Uzbuđenje također može utjecati na promjenu frekvencije disanja u smislu povećanja, dok spavanje i gubitak krvi snižavaju frekvenciju disanja (K.Babić i sur., 2003.).



Slika 1. Mjerenje temperature

Izvor: Vlastita fotografija

Tablica 2. Fiziološke vrijednosti tjelesne temperature i frekvencije disanja u domaćih životinja

	Ferkvencija disanja/min	Tjelesna temperatura, °C
Konj	10-15	37,5- 38,5
Govedo	10-30	38,5-39,0
Ovca	12-20	38,5-40,0
Svinja	10-20	38-40
Pas	10-30	37,5- 38,5

Izvor: Ramadan, P.,Harapin, I. (1998.)

2.4. Biokemijski pokazatelji

Aspartat aminotransferaza (AST)

Aspartat aminotransferaza (AST) nije enzim specifičan isključivo za jetru, tako da mu važnost očituje u dijagnostici bolesti jetre i srčanog mišića. Razina AST-a u serumu mijenja se kod ozljeda poprečno prugaste muskulature i kod miopatija. Hepatopatije i miopatije razlikuju se prvenstveno tijekom bolesti, a mogu se razlučiti kliničkim i drugim laboratorijskim pretragama. Pri akutnom hepatitisu vrijednosti ALT-a i AST-a se izrazito povisuju, dok je kod razvoja kronične upale jetre i razvoja ciroze, kao i kod akutne opstruktivne žutice njihov rast umjereniji (Ramadan i Harapin, 1998.).

Fiziološke vrijednosti AST-a za govedo iznose do 60 IU/l. Aktivnost AST-a u serumu opada za 8% nakon 3 dana na +4 °C, dok je na -20 °C stabilan 7 dana. Određivanje nije moguće u hemolitičkom serumu i u plazmi s oksalatnim antikoagulansom (Ramadan i Harapin, 1998.).

Alanin aminotransferaza (ALT)

Alanin aminotransferaza (ALT) je enzim koji pripada skupini aminotransferaza, odnosno enzima koji sudjeluju u metabolizmu aminokiselina. Često se naziva jetrenim enzimom, ali kod krava se nalazi i u mišićnim stanicama, tako da nije enzim specifičan samo za jetru. U stanicama je razmješten u citoplazmi i u mitohondrijima. (Ramadan i Harapin, 1998.).

Povećane vrijednosti alanin aminotransferaze u krvnom serumu služe kao indikator oboljenja parenhima jetre. Kod toksičkog oštećenja jetre javljaju se različite promjene u razini enzima u serumu, tako da je kod određivanja enzima uvijek potrebno raditi nekoliko pretraga uzastopno u određenim vremenskim razmacima.

Fiziološke vrijednosti ALT-a za govedo iznose 3-15 IU/l. Vrijednost alanin aminotransferaze u serumu na + 4°C opada za 10 % tijekom tri dana, a na - 20°C zadržava vrijednost sedam dana (Ramadan i Harapin, 1998.).

Alkalna fosfataza (ALP)

Alkalna fosfataza (ALP) je grupno-specifični enzim koji katalizira hidrolizu monoestera fosfatne kiseline i alkohola. Optimalni pH za djelovanje enzima je između 9,8 i 10,5, a zavisi od vrste supstrata i vrste pufera. Pokazuje najjaču aktivnost u alkalnom području, zato se i naziva alkalna fosfataza. Enzim je prisutan najviše u epitelu tankog crijeva, bubrežnim tubulima, kostima, jetri, placenti i leukocitima. Postoji nekoliko različitih izoenzima alkalne fosfataze u zavisnosti od porijekla tkiva, pa tako je drugačija struktura izoenzima ALP u tkivu jetre, a drugačija u tkivu kostiju. Vrijednosti serumske alkalne fosfataze variraju i u zavisnosti od spola i starosti. Veće vrijednosti utvrđujemo kod bređih krava odnosno krava u suhostaju. Snižene vrijednosti ovog enzima utvrđuju se kod: pothranjenosti, nedostatka bjelančevina, kod oštećenja bubrega, nedostatka vitamina B12, cinka i magnezija.

Fiziološke vrijednosti ALP-a kod goveda iznosi do 105 U/l. Aktivnost ALP-a u serumu na +4°C je sedam dana, a na -20°C također sedam dana.(Ramadan i Harapin, 1998.).

Gama glutamil transferaza (GGT)

Gama glutamil transferaza (GGT) je membranski enzim iz grupe peptidaza koji katalizira prijenos hidrolizom oslobođenog ostatka glutaminske kiseline na neku aminokiselinu ili peptid. U organizmu se javlja pretežno vezan na stanične membrane. Najviše GGT-a ima u bubregu, prostati, jetri, epitelu tankog crijeva i mozgu, nalazi se na mjestima intenzivne apsorpcije aminokiselina. Iako je prisutan i u pankreasu i bubrezima, GGT je izrazito osjetljiv indikator za oboljenja jetre. Porast koncentracije GGT je najosjetljiviji pokazatelj oštećenja jetre. Aktivnost je povišena kod ciroze jetre, postojanja opstrukcije u žučnim putevima, primarnih ili metastatskih tumora jetre, srčanih bolesti i zloćudnog tumora pankreasa.

Fiziološke vrijednosti GGT-a za govedo iznose do 27 U/l. Vrijednost GGT-a u serumu na + 4°Cse ne mijenja tijekom sedam dana. (Ramadan i Harapin, 1998.).

Neesterificirane masne kiseline (NEFA)

Neesterificirane masne kiseline (NEFA) su dugolančane masne kiseline koje se oslobađaju iz masnih rezervi kao odgovor na gladovanje. Njihova razina koristan je pokazatelj energetskog statusa, no podložna je znatnim razlikama tijekom dana i nakon hranjena. Vrijednosti NEFA brzo se povisuju u slučaju stresa i uzbuđenja. Znatnije se povećava u kasnoj gravidnosti i ranoj laktaciji, prije beta hidroksimaslačne kiseline (βHB). (Herak-Perković i sur., 2012.).

Kad je mast pohranjena u masnom tkivu potrebna negdje drugdje u tijelu kao izvor energije, ona se najprije mora prenijeti iz masnog tkiva do tih tkiva. Prenosi se uglavnom u obliku slobodnih masnih kiselina. One nastaju hidrolizom triglicerida u masne kiseline i glicerol. Najmanje su dvije skupine podražaja važne pri poticanju hidrolize. Prvo, ako je masnim stanicama dostupno premalo glukoze, raspoložive količine njezina razgradnoga proizvoda α-glicerofosfata također su nedostatne. Budući da je taj spoj potreban za stvaranje glicerolskoga dijela triglicerida, pri njegovom se manjku trigliceridi hidroliziraju. (Guyton i Hall, 2006.).

Kad izađu iz masnih stanica u plazmu, masne kiseline jako ioniziraju i odmah se spajaju s albuminima u plazmi. Takve masne kiseline zovu se slobodne masne kiseline ili

neesterificirane masne kiseline, kako bi se razlikovale od ostalih masnih kiselina u plazmi koje postoje u obliku estera glicerola, kolesterola ili drugih tvari. (Guyton i Hall, 2006.).

Kao najpouzdaniji pokazatelji negativne energetske ravnoteže i predispozocije za ketozu može se koristiti koncentracija NEFA i βHB u krvnoj plazmi/serumu. Porast razine NEFA odraz je negativnog energetskog statusa (Payne i Payne, 1987.). Ako koncentracija NEFA u krvnoj plazmi znatno poraste, zbog ograničenog kapaciteta vezanja na albumine, porasti će udio NEFA nevezanih na albumine (Bruss, 1997.). NEFA nevezane na albumine imaju toksične učinke na membrane stanica (Ramasamy i sur., 1991.).

Kao posljedica povećanog opsega lipolize u krvi poraste koncentracija NEFA (Vernon, 2005.). Neesterificirane masne kiseline iz krvi iskoristi većina tkiva, a u najvećoj mjeri jetra, skeletni i srčani mišić za dobivanje energije putem beta-oksidacije u mitohondrijima (Neely i sur., 1972.). One se iskorištavaju i u mliječnoj žlijezdi za sintezu mliječne masti. Povećana koncentracija NEFA u plazmi može pridonijeti negativnoj energetskoj ravnoteži, budući da se u mliječnih krava dovodi u vezu i sa smanjenim unosom hrane (Ingvartsen i Andersen, 2000.).

Beta hidroksimaslačna kiselina (βHB)

Beta hidroksimaslačna kiselina (βHB) je kratkolančana masna kiselina koja se sintetizira kada se masti intenzivno iskorištavaju za proizvodnju energije. Beta hidroksimaslačna kiselina spada u ketonska tijela. Zajedno s drugim ketonskim tijelima vrijednosti mu se povisuju kada životinja gladuje. Razina βHB-a usko je povezana s energijskim statusom, kada postoje velike potrebe za glukozom (kasna gravidnost, laktacija). Ne povisuje se u stresu. (Herak-Perković i sur., 2012.). Određene količine beta hidroksimaslačne kiseline (βHB) sintetiziraju se u stijenci predželudaca iz maslačne kiseline (Drackley i sur., 1990.).

Znatna količina glukoze koja se iskorištava u mliječnoj žlijezdi za potrebe sinteze laktoze, smanjuje ionako nisku razinu glukoze u krvi mliječih krava. Posljedica je pad razine inzulina i porast razine glukagona u krvi, sa posljedičnim povećanim obimom lipolize i beta-oksidacije nastalih masnih kiselina (Vernon, 2005), iz kojih nastaje znatna količina acetil CoA, i to polovičan broj od C-atoma slobodne masne kiseline. Nastali acetil-CoA ulazi u ciklus limunske kiseline, ali samo u količini koja je ovisna o raspoloživosti oksalacetata (OA),

a koji ovisi o količini glukoze. Preostali acetil-CoA skreće u ketogenezu, što je osnova za stvaranje ketonskih tijela u visoko mliječnih krava (Zammit, 1983.).

Osobitost metabolizma preživača je i niža koncentracija oksal-acetata u mitohondrijima, što pridonosi nastanku ketonskih tijela (Vernon, 2005.). Ključni enzim ketogeneze – mitohondrijska hidroksimetilglutaril koenzim A sintaza (HMG CoA-sintaza) (Valerra i sur., 1994.) gotovo je isključivo ograničen na mitohondrije jetre (McGarry i Foster, 1969.). Količina HMG CoA-sintaze povećava se pod utjecajem cikličnog adenozin monofosfata, glukokortikoida, tijekom gladovanja i dijabetesa, a smanjuju je inzulin i ponovno hranjenje (Serra i sur., 1993.).

Glukoza

Glukoza je monosaharid koji se nalazi u krvi svih sisavaca. Potrebna je za rad mišića, te za sve procese u organizmu, uključujući i rad mozga, što ju čini i najznačajnijim izvorom energije.

Koncentracija glukoze u krvi smatra se važnim metaboličkim pokazateljem funkcioniranja u organizmu. Glikemija je pojam za mehanizam regulacije stalnog nivoa glukoze krvi u organizmu. Povišena količina glukoze u krvi naziva se hiperglikemija**,** stanje koje nastaje pri povećanom konzumiranju šećera, ili pak pri oboljenjima jetre i poremećaju rada endokrinih žlijezda kao što su hipofiza, nadbubrežna žlijezda i štitnjača, te oštećenjima živčanog sustava. Dijabetes melitus je bolest koja se očituje hiperglikemijom, a prati ju glikozurija, odnosno izlučivanje šećera mokraćom. Suprotno hiperglikemiji, stanje kad je koncentracija glukoze ispod fizioloških granica naziva se hipoglikemija, a ono se javlja pri dužem gladovanju i/ili povećanim potrebama za glukozom, primjerice uslijed ketoze kod muznih krava kada je je količina unutarnjih rezervi glukoze i glikogena nedovoljna zbog naglo povećane proizvodnje mlijeka nakon teljenja (Ramadan i Harapin, 1998.).

Glukoza u krv dospijeva izravnom apsorpcijom iz crijeva ili proizvodnjom u jetri iz preteče glukoze, odnosno ugljikohidrata, aminokiselina i laktata. Radom probavnih enzima u metabolizmu ugljikohidrata nastaju monosaharidi glukoza, fruktoza i galaktoza. Prilikom resorpcije u epitelu crijeva najveći dio fruktoze i galaktoze pretvara u glukozu koja potom odlazi u krv. Ostatak fruktoze i galaktoze može resorpcijom dospjeti izravno u krv, pa portalnim krvotokom u jetru. U jetri je omogućena međusobna pretvorba sva tri monosaharida, tako da se fruktoza i galaktoza nizom reverzibilnih reakcija pretvaraju u

glukozu. U konačnici svi ugljikohidrati se u formi glukoze prenose do ostalih tkiva u organizmu (Kaneko i sur., 1997.).

Glukagon, kortizol i adrenalin su hormoni koji imaju suprotan učinak od inzulina. Naime, oni potiču glukoneogenezu i glikogenolizu, rezultat čega je porast razine glukoze u krvi. Proces glukoneogeneze koji se odvija u jetri također je izvor glukoze u krvi, jer se u njemu vrši sinteza glukoze iz tvari koje nisu ugljikohidrati, na primjer aminokiseline, glicerol, mliječna kiselina, te propionat u preživača. Upravo kod preživača glukoneogeneza ima važnost, jer se procesom probave glavnina ugljikohidrata konzumiranih hranom podvrgava djelovanju mikroflore u predželucima, koja ih zatim fermentira do hlapivih masnih kiselina, odnosno octene, propionske i maslačne kiseline. Mali ostatak lako probavljivih ugljikohidrata iz hrane izbjegne fermentaciju u predželucima i postaje izvor glukoze za izravnu apsorpciju u krv (Kaneko i sur., 1997.).

Fiziološke vrijednosti u glukoze u goveda su od 2,2 do 4,5 mmol/l (Ramadan i Harapin, 1998.).

Urea

Urea kao glavni metabolički produkt dušikovih tvari u organizmu nastaje iz amonijaka i ugljikovog dioksida putem Krebbs-Henseleitovog ciklusa u jetri. Njezino stvaranje ovisi o dnevnom unosu bjelančevina te endogenom metabolizmu bjelančevina. Izlučuje se preko bubrega, a određeni postotak se ponovno reapsorbira iz primarne mokraće.

Urea je količinski najvažniji proizvod metabolizma bjelančevina u organizmu, pa je osim bubrežnih ujedno i pokazatelj ekstrarenalnih poremećaja. Povišena razina ureje u krvi može biti posljedica hranidbe bogate bjelančevinama ili pojačanog metabolizma bjelančevina uslijed temperature, traume ili krvarenja. Povišenje ili smanjenje razine ureje u krvi također može biti posljedica povećanog ili smanjenog uzimanja tekućine, isto kao i oligurije, odnosno poliurije (Ramadan i Harapin, 1998.)

U buragu preživača razgrađuju se bjelančevine i tvore amonijak, a bakterije buraga ga prerađuje ponovno u aminokiseline. Odnos brzine razgradnje konzumiranih bjelančevina i lakoprobavljih ugljikohidrata sa brzinom rasta mikroflore u buragu je takav da brzina rasta mikroflore ne ovisi o brzini razgradnje konzumiranih bjelančevina, ali je ovisna o količini konzumirane energije. Naime, hrana bogata bjelančevinama osigurati će veliku količinu

amonijaka u buragu, dok će hrana bogata ugljikohidratima uvjetovati njegovu brzu potrošnju. Može se zaključiti da će neuravnotežen omjer bjelančevina i ugljikohidrata, odnosno energija u hrani utjecati na povećanu ili smanjenu koncentraciju amonijaka u buragu (Ramadan i Hrapin, 1998.).

Kod preživača sa zdravim bubrezima koncentracija ureje u krvi je zapravo indirektan pokazatelj koncentracije amonijaka u buragu. Višak amonijaka nakon što se apsorbira kroz epitel buragove sluznice, pretvorit će se u ureju u jetri. Urea može putem slinedospjeti u burag gdje služi za sintezu mikrobnih aminokiselina, što se događa pri hranidbi u krmivima siromašnim bjelančevinama. Razina ureje u krvnom serumu na taj način služi kao pokazatelj odnosa bjelančevina i energije (Ramadan i Harapin, 1998.).

Fiziološka vrijednost ureje kod goveda iznosi 4,1 do 5,8 mmol/l. U serumu pri +4°C urea je stabilna do 3 dana, dok je na –20 stabilna do 6 mjeseci. Lipemičan serum ne smeta pretrazi, ali hemolitičan serum mijenja rezultat (Ramadan i Harapin, 1998.).

Proteini (Bjelančevine)

Bjelančevine ili proteini su skupina organskih tvari velike molekularne mase. Bjelančevine su osnovne strukturne tvari organa i cijeloga životinjskog organizma. Predstavljaju stanični sadržaj, izgrađuju mišićno tkivo , vezivno tkivo , kožu, dlaku, vunu, perje, rogove, i papke. Bjelančevinaste prirode su i enzimi, veći broj hormona, kao i protutijela. Značaj bjelančevina je time veći kada se zna, da bjelančevine u tijelu životinje mogu biti izgrađene samo od bjelančevina iz hrane, kao i da su rezerve ovih strukturnih tvari u organizmu ograničene na oko 7%. Iz navedenih činjenica proistječe zaključak o potrebi životinje da svakodnevno konzumira dostatne količine bjelančevina u obroku (Domaćinović, 2006.).

Bjelančevine kao i ugljikohidrati, sastavljeni su iz C, H i O. Kao prilično stalna je i koncentracija N, a velik broj ih u strukturi sadrži S i P. U bjelančevinama je odnos ovih elemenata slijedeći:

ugljik 51,0 – 55,0%	dušik 15,5 –16,5%
vodik 6,5 – 7,5%	sumpor 0,5 – 2,0%
kisik 21,5 – 23,5%	fosfor do 1,5%

Iz istih elemenata građene su i aminokiseline koje čine molekulu bjelančevine. Od svih prethodno spomenutih elemenata karakterističnu ulogu kod bjelančevina ima N. njegov udio u bjelančevinama, množi se udio sa 6,25. Inače, udio N nije u svim bjelančevinama uvijek 16%, te se i koeficijent kojim se N množi kreće od 5,2 – 6,7. Pojedine biljne bjelančevine, a osobito životinjske razlikuju se međusobno po aminokiselinskom sastavu i prostornoj strukturi (Domaćinović, 2006.). Sve bjelančevine dijele se na proste ili prave i složene ili konjugiranje. Proste ili prave bjelančevine hidrolizom daju samo aminokiseline i polipeptide kao njihove derivate, dok složene bjelančevine predstavljaju kombinaciju bjelančevina sa neproteinskim radikalom.

Prema Ramadanu i Harapinu (1998.) fiziološka vrijednost ukupnih bjelančevina kod goveda iznosi 60-80 g/L. Vrijednosti su stabilne u serumu na +4 tijekom 6 dana, a na -20 oko šest mjeseci.

Albumini

Prave bjelančevine se dijele prema strukturnoj konfiguraciji na globularne i vlaknaste. Dok globularne bjelančevine karakteriziraju dugi polipeptidni lanci specifične konfiguracije, vlaknaste bjelančevine grade izduženi peptidni lanci, povezani različitim poprečnim vezama, zbog čega imaju vrlo stabilnu strukturu. Jedni takvi proteini su albumini.

Albumini su vrlo rasprostranjene bjelančevine u biljnom i životinjskom organizmu. Topivi su u vodi, termolabilni su, a pri zagrijavanju koaguliraju. Najpoznatiji albumini su: Ovalbumin iz jaja, serumalbumini krvnog seruma i laktalbumin iz mlijeka (Domaćinović, 2006.).

Albumini imaju transportnu ulogu u krvnoj plazmi sudjelujući u prijenosu nekih tvari netopljivih u vodi. Vezanjem pojedinih sastojaka krvne plazme na albumin, primjer čega su i nekonjugirani bilirubin ili masne kiseline, sprječava se njihov gubitak kroz bubrege. Uloga albumina očituje se u održavanju koloidno-osmotskog tlaka. Osmotski tlak održava protutežu hidrostatskog tlaka krvi kojeg stvara srce. To znači da koloidno osmotski tlak ne dopušta hidrostatskom tlaku da preko krvnih kapilara izbaci preveliku količinu tekućine u izvanstanični prostor. Upravo to je razlog zašto se pri hipoalbuminemiji pojavljuju edemi.

Fiziološke vrijednosti albumina prema Ramadanu i Harapinu (1998.), za govedo iznose 30 do 36 g/l.

Trigliceridi

Trigliceridi su esteri alkohola glicerola i triju dugolančanih masnih kiselina. U krvnoj plazmi očitiju se kao sastavni dio lipoproteina.

Organizam iskorištava mast iz hrane ili masnih rezervi tako da trigliceride najprije razgrađuje uz pomoć enzima na glicerol i masne kiseline. Tada razgrađene tvari iskorištavaju se u metabolizmu, glicerol se pretvara u glukozu koja se dalje može koristiti za stvaranje energije ili za sintezu drugih tvari, a masne kiseline se razgrađuju do jednostavnijih također uz oslobađanje energije. Obrnut proces ako organizam konzumira prevelike količine ugljikohidrata, tada se njihov višak pretvara preko glicerola u trigliceride, koji se pohranjuju u masnom tkivu u obliku tjelesne masti.

Trigliceridi u krvi jedan su od izvora masnih kiselina za sintezu mliječne masti u sekretornim stanicama mliječne žlijezde (Vernon, 2005.). Trigliceridi se sintetiziraju u stanicama sluznice crijeva iz masnih kiselina i monoglicerida nastalih probavom masti, te se oslobađaju u limfu kao sastavni dio hilomikrona. U jetri se trigliceridi sintetiziraju iz NEFA krvi, suviška glukoze, acetata i propionata te se oslobađaju u krvotok u sastavu VLDL (Bruss, 1997.). Trigliceridi se transportiraju u krvi najvećim dijelom u sastavu hilomikrona i VLDL. Stead i Welch (1975.) su utvrdili da trigliceridi sačinjavaju 60 % VLDL, 1% lipoproteina male gustoće (engl. Low density lipoproteins - LDL i 4 % lipoproteina velike gustoće (engl. high density lipoproteins – HDL) kod krava. Lipoprotein lipaza u endotelu kapilara brojnih tkiva, najviše masnog tkiva, srčanog i skeletnog mišićja te mliječne žlijezde, razgrađuje trigliceride hilomikrona i VLDL-a, omogućujući time ulazak nastalih masnih kiselina u tkiva i njihovu razgradnju, odnosno ponovnu esterifikaciju u masnim stanicama (Herrera i sur., 1988.).

Porast triglicerida u plazmi rezultat je njihove povećane resorpcije u crijevima i povećane sinteze u jetri, dok je pad odraz smanjene resorpcije, smanjene sinteze u jetri i povećanog opsega razgradnje triglicerida.

Fiziološke vrijednosti triglicerida za govedo iznose 0 – 0,2 mmol/l (Kaneko i sur., 1997.).

Kolesterol

Kolesterol je steroid koji se nalazi u svakoj stanici u organizmu, jer gradi stanične membrane. Osim toga, služi kao prekursor za sintezu steroidnih hormona, vitamina D, žučnih kiselina i slično. Te tvari uglavnom gradi kolesterol endogenog porijekla, koji se sintetizira u organizmu, te vrlo malo egzogeni kolesterol, koji se apsorbira iz probavnog sustava. Najveći je dio kolesterola sintetizira se i razgrađuje u jetri, ali i druga tkiva kao što je sluznica tankog crijeva imaju ulogu pri sintezi. Stvara se iz koenzima A, koji u organizmu nastaje kao proizvod metabolizma ugljikohidrata, bjelančevina i posebice masti (Ramadan i Harapin, 1998.)

Kolesterol je bitan sastojak gotovo svih stanica u životinjskom organizmu, a kod biljoždera praktički ne postoji unos kolesterola hranom jer je količina kolesterola u biljkama neznatna. Sinteza kolesterola odvija se iz prekursora acetil-CoA uglavnom u jetri, u vrlo malom opsegu i u kori nadbubrežne žlijezde, testisima i jajnicima (Beitz, 2004.).

Obim sinteze u jetri ovisan je o unosu kolesterola hranom. Ključni enzim u sintezi kolesterola je hidroksimetilglutaril koenzim A reduktaza (HMG-CoA reduktaza). Aktivnost HMG-CoA reduktaze koče povišena koncentracija kolesterola u plazmi, glukagon, i glukokortikoidi, a potiču je snižena razina kolesterola u krvi i inzulin (Bruss, 1997.).

Kolesterol sintetiziran u jetri može se izlučiti putem žuči, poslužiti za sintezu žučnih kiselina ili esterificirati sa višim masnim kiselinama i izlučiti u krv kao dio VLDL. Osim u sastavu VLDL, kolesterol se u krvi prenosi u sastavu HDL, čija je uloga prijenos kolesterola izperifernih tkiva u jetru (Tall i Lange, 1978.). Stead i Welch (1975.) su utvrdili da kolesterol i esteri kolesterola čine oko 9 % VLDL, 40 % LDL i 34 % HDL kod krava.

Prema Ramadan i Harapin (1998.), kolesterol se krvlju prenosi vezan na lipoproteine, gdje je 30% u slobodnom obliku, a 70% je u esterificiranom obliku.

Fiziološke vrijednosti kolesterola kod goveda iznose 2,3 do 4,7 mmol/l. U serumu na +4°C stabilnost zadržava šest dana, a na – 20°C i do šest mjeseci (Ramadan i Harapin, 1998.).

Željezo (Fe)

Iako je ubrojen u mikroelemente željezo se po udjelu u tijelu nalazi na prijelazu između makro i mikroelemenata. Životinjski organizam sadrži oko 60 mg Fe/kg tjelesne mase. Od 60–70% od ukupne količine Fe u tijelu nalazi se u hemoglobinu, 15 – 20% u jetri, i oko 3- 20% u mioglobinu. Osnovna funkcija Fe je da kao sastavni dio hemoproteina, hemoglobina (Hb) aktivno sudjeluje u prijenosu kisika te predstavlja najvažniji element disanja. Drugi važan hemoprotein s Fe je mioglobin, građen od hema i globina mišića, s dobrim kapacitetom vezanja kisika. Mioglobin ne predstavlja samo depo kisika u mišićima, već olakšava i njegov transport tijekom rada mišića. U slučajevima manjeg opterećenja mišića, nizak je sadržaj mioglobina, a mišićno tkivo poprima svjetliju boju. Poznato je da od količine kisika u stanici ovise i svi oksidacijski procesi pri razgradnji hranjivih tvari (Domaćinović, 2006.).

U slučajevima nedostatka Fe u obrocima smanjuje se količina hemoglobina i broj eritrocita izazivajući kod životinja pojavu anemije**.** Manjak Fe može izazvati antagonist željeza- fosfor, koji pri povećanoj količini u hrani tvori teško razgradiv feri-fostfat. Potrebe za željezom najjače su izražene kod mladih kategorija životinja. Anemija može nastati i kao posljedica neke infekcije parazitima zbog čega je pojačan gubitak krvi. Karakteristike anemije su: slabi apetit, slab prirast, gruba koža i dlaka, a narušava se i imunitet organizma. Pojava anemije može nastati kod teladi ako se telad kroz dulje vrije hrani mlijekom, pri čemu se javlja pojava tzv. „bijelog mesa“. Ova fiziološka promjena svijetle boje koristi se u specijalnom tovu teladi na „bijelo meso“ (Domaćinović, 2006.).

Toksičnost željeza je manjeg značaja u praktičnim uvjetima jer se povećanjem Fe hrane smanjuje resorpcija. Manjak Mg može izazvati hemolitičku anemiju, gdje se akumulira Fe u tkivu uz nastajanje lipoperoksida i oštećenja membrana stanica. Suvišne količine S u hrani također dovode do akumuliranja Fe u jetri i bubrezima (Domaćinović, 2006.).

Fiziološka vrijednost željeza za govedo iznosi 27-40 μmol/l. Na +4°Cu serumu stabilan je 7 dana. (Ramadan i Harapin, 1998.).

Kalcij (Ca)

Kalcij (Ca) je u životinjskom organizmu gotovo u cijelosti u anorganskom obliku. On predstavlja oko 1/3 od ukupne mase obezmasčenih i suhih kostiju. U krvi je značajan pri regulaciji reakcije krvi i tkivnih tekućina, a sudjeluje i u zgrušavanju krvi (transformacija protrombina u trombin). Kao sastavni dio stanične membrane, važan je za njenu dobru propusnost, a time i za transport tvari. Uloga kalcija vezana je uz aktivaciju pojedinih enzimskih sustava važnih u kontrakciji glatkih i poprečno-prugastih mišića, kao i za aktivnost tripsina u tankom crijevu. Nadalje, kalcij stimuliranjem sinteze acetil-kolina potiče aktivnost živčanog sustava pri prijenosu podražaja. Promet kalcija u organizmu kontrolirana je djelovanjem određenih hormonskih i vitaminskih tvari (Domaćinović, 2006.).

U koliko u obroku životinja duže vrijeme nedostaje Ca javlja se deficit istog, a on se prije svega manifestira na oboljenju kosti. Nedostatak Ca ili P, kao i oba zajedno, kod mladih životinja izaziva rahitis. Javlja se najviše kod teladi i prasadi, a manifestira se usporenim rastom, iskrivljenjem kosti i odebljalim upaljenim zglobovima. Kod starijih životinja nedostatak ovih minerala naziva se osteomalacija zbog demineralizacije kosti postaju meke i lomljive, dok se kod osteoporoze kosti istanjuju, postoje krhke i porozne. Kod mliječnih krava neposredno nakon partusa deficit kalcija se manifestira pojavom mliječne groznice. Vanjski simptomi se odražavaju povećanom razdražljivošću, grčevitim pokretima, a kulminiraju komatoznim stanjem. Na nedostatak kalcija najviše su osjetljive visoko bređe životinje zbog brzog razvoja koštanog tkiva. Prvi pouzdan indikator nedostatka Ca je smanjenje Ca u krvi na manje od 8mg/100ml, a potom mobiliziranjem rezervi iz cjevastih kostiju. Kada životinja hranom prima Ca u suvišku tada nastaje hiperkalcemija**,** na koju organizam reagira tako da višak Ca deponira u velikim cjevastim kostima kao vlastitu rezervu ovog minerala. Hiperkalcemija nepovoljno utječe na resorpciju i metabolizam drugih minerala poput mangana, magnezija, cinka, željeza, joda i bakra (Domaćinović, 2006.).

Fiziološka vrijednost kalcija za govedo iznosi 2,5-2,9μmol/l. Kalcij u serumu na +4°C stabilan je 10 dana, a na -20°C 32 tjedna.(Ramadan i Harapin, 1998.).

Fosfor, (P)

Fosfor (P) pored toga što uz kalcij ima veliki značaj kao građevni element kosti, u većoj mjeri je zastupljen i u mekim tkivima (oko 0,15 – 0,20% većinom u organskom obliku), i krvi (35 – 45 mg/100 ml kao ortofosfat), gdje obavlja različite fiziološke funkcije. Iako je samo 4-9 mg/100 ml P krvne plazme u anorganskom obliku, od velike je važnosti za podmirenje ukupnih potreba fosfora, jer se lako transformira u organski oblik. Fosfor kao sastavna komponenta ADP-a, ATP-a i kreatin-fosfata aktivno sudjeluju i u metabolizmu energije, ugljikohidrata, aminokiselina i masti, sudjeluju u transportu masnih kiselina. Pozivajući se na fiziološke funkcije P u organizmu, ovo je mineralna tvar sa najširim spektrom djelovanja. (Domaćinović, 2006.).

Nedostatak P u hrani dovodi do smanjenja sadržaja ovog elementa u krvnoj plazmi, smanjuje se udio P u kostima što izaziva krhke i lako lomljive kosti. Kod dužeg nedostatka P životinje gube apetit, zaostaju u rastu, smanjuje im se plodnost, a veći nedostaci mogu dovesti do rahitisa i osteomalacije. Manjak ovih makroelemenata izaziva i pojavu nastranog apetita alotriofagije. Značajno je navesti da se organizam životinje i kod nedostatka fosfora štiti mogućnošću značajnog depoa ovog minerala u cjevastim kostima. Dok je kod preživača češći nedostatak P, kod nepreživača je više izražen manjak Ca. Kao dopuna organskih krmiva, u smjese i obroke gotovo redovito su uključeni mineralni dodaci kao izvori kalcija i fosfora (Domaćinović, 2006.).

Fiziološka vrijednost fosfora za govedo iznosi 1,6-2,3mmol/l.(Ramadan i Harapin, 1998.).

3. MATERIJAL I METODE

Istraživanje je provedeno na farmi mliječnih krava Vrana d.o.o. Poljoprivredno poduzeće čije se proizvodne površine nalaze neposredno uz poznati park prirode "Vransko jezero", na hrvatskoj obali Jadranskog mora, u blizini grada Biograd na moru. Čitav kraj ima dugu poljoprivrednu tradiciju, a organizirana poljoprivredna proizvodnja postoji više od 100 godina.

Društvo na oko 1000 ha površine ima organiziranu proizvodnju povrća na otvorenom, 6 ha stakleničke proizvodnje, te proizvodnju krmiva za potrebe stočarske farme (450 krava u laktaciji). Tu je i peradarska farma za proizvodnju svježih konzumnih jaja čiji su planirani standardni kapaciteti 100 000 kokoši nesilica.

Osnovna djelatnost govedarske farme je proizvodnja mlijeka. Farma ima kapacitet oko 900 grla, od čega je oko 450 grla u laktaciji. Farma je suvremeno organizirana, s vlastitom proizvodnjom i pripremom stočne hrane što na prvom mjestu omogućuje mlin te suradnja sa sektorom biljne proizvodnje.

U pripremi samoga istraživanja odabrano je 12 krava pasmine holstein u stadiju suhostaja. Dvanaest dana prije očekivanoga teljenja tim je kravama izvađena krv, izmjerena je tjelesna temperatura i frekvencija disanja te je određena tjelesna kondicija. Dva dana nakon teljenja istim je kravama ponovno vađena krv, izmjerena tjelesna temperatura i frekvencija disanja i određena tjelesna kondicija. Isti postupak na istim kravama je ponovljen i 12. dana laktacije. Isti je postupak proveden na drugih 12 krava, koje su u to vrijeme bile u visokoj laktaciji (>90. dana laktacije).

Tablica 3. Sastav dnevnog obroka za krave u suhostaju i laktaciji

	Obrok za krave u suhostaju, kg/kravi	**Obrok za krave u laktacija, kg/kravi**
Sijeno	0	3
Slama	5,7	0
Silaža	20	25
Sjenaža graška	0	9
Smjesa 21,5 %	5	11
Premiks	0,3	0,3
Melasa suha	0	0,3

Tablica 4. Energetska i hranjiva vrijednost smjese za mliječne krave

Sastojak sirovine	Mjerna jedinica	Sadržaj
Suha tvar	G	24729,00
NEL- preživači	MJ	154,11
Sirovi protein	G	3781,29
Kalcij	G	327,63
Fosfor	G	110,03
Sirova vlaknina	G	3450,57

Tjelesna temperatura krava mjerena je pomoću digitalnog toplomjera, u rektumu. Frekvencija disanja određivana je promatranjem širenja grudnog koša tijekom jedne minute (Slika 2.). Tjelesna temperatura i frekvencija disanja određivane su prije uzimanja uzoraka krvi. Prilikom ocjenjivanja tjelesne kondicije najveća pažnja posvećivala se procjeni veličine nakupina masnog tkiva na nekoliko mjesta, kao što su: sjedne kvrge, repne jame, kukovi, bočne kvrge, slabinski kralješci i rebra. Uzimanje uzoraka krvi napravljeno je pomoću vacutainera i vakumskih epruveta bez antikoagulansa. Krv je uzeta iz repne vene - *vena caudalis* (Slika 3.).



Slika 2. Mjerenje frekvencije disanja

Izvor: Vlastita fotografija



Slika 3. Uzimanje krvi iz repne vene (*vena caudalis*)
Izvor: vlastita fotografija

Nakon vađenja krv je centrifugirana na 3000 okr/min tijekom 10 minuta. Centrifugiranjem su sedimentirane krvne stanice, a serum je odvojen i smrznut na - 20°C do daljnjih analiza(Slika 4).



Slika 4. Zamrznuti uzorci seruma
*Izvo*r: vlastita fotografija

Na automatatskom biokemijskom analizatoru olympus AU400, Olympus®, Japan (Slika 5.) utvrđeni su biokemijski pokazatelji: koncentracija glukoze, aktivnost aspartat aminotransferaze, aktivnost alanin aminotransferaze, aktivnost alkalne fosfataze, aktivnost gama glutamil transferaze, koncentracija neesterificiranih masnih kiselina, koncentracija β hidroksimaslačne kiseline, koncentracija ureje, koncentracija ukupnih bjelančevina, koncentracija albumina, koncentracija željeza, koncentracija kolesterola, koncentracija triglicerida, koncentracija fosfora i koncentracija kalcija u serumu.

Rezultati dobiveni određivanjem tjelesne kondicije, mjerenjem tjelesne temperature, i frekvencije disanja te analizom uzoraka seruma krava u suhostaju (12 dana prije teljenja), svježe oteljenih (2 dana nakon teljenja), ranoj laktaciji (12 dana nakon teljenja) i visokoj laktaciji (90 dana nakon teljenja) obrađeni su statističkim programom StatSoft, Inc. (2007.). STATISTICA. Postojanje razlika između srednjih vrijednosti pojedinih parametara kroz proizvodna razdoblja utvrđeno je GLM metodom ANOVA ponovljenoga mjerenja. Ako je test pokazao postojanje razlika ($p<0,05$), napravljen je i *post hoc* Fisher LSD test te je utvrđeno između kojih srednjih vrijednosti postoje razlike.



Slika 5. Biokemijski analizator Olympus AU400

Izvor: vlastita fotografija

4. REZULTATI

Određivanjem tjelesne kondicije, mjerenjem tjelesne temperature, frekvencije disanja te analizom uzoraka seruma krava u suhostaju (12 dana prije teljenja), svježe oteljenih (2 dana nakon teljenja), ranoj laktaciji (12 dana nakon teljenja) i visokoj laktaciji (90 dana nakon teljenja) utvrđeni su sljedeći rezultati.

Tablica 5. Prosječne vrijednosti tjelesne kondicije, tjelesne temperature i frekvencije disanja krava tijekom različitih proizvodnih razdoblja.

	Suhostaj	Svježe oteljene	Rana laktacija	Visoka laktacija	P-vrijednost
	$\bar{x}$±SD	$\bar{x}$±SD	$\bar{x}$±SD	$\bar{x}$±SD	
BSC	$3,79^{a}$±0,3	$3,16^{b}$±0,2	$3,18^{b}$±0,5	$3,08^{b}$±0,6	0,000063
t.t.	$38,8^{a}$±0,4	$39,19^{b}$±0,3	$39,35^{b}$±0,2	$38,88^{ab}$±0,4	0,007872
Disanje	$46,8^{a}$±5,5	$43,5^{ab}$±2,9	$41,1^{b}$±3,8	$41,7^{b}$±2,5	0,007515

$\bar{x}$- srednja vrijednost, **SD**-standardna devijacija,**BSC** – Tjelesna kondicija; **t.t**.- tjelesna temperatura,

Tjelesna kondicija krava u suhostaju (3,79) bila je veća u odnosu na tjelesnu kondiciju krava u ostalim proizvodnim razdobljima te je između skupine suhostaja i ostalih skupina postojala značajna ($p<0,05$) razlika (Tablica 5; Grafikon 1.).

Prosječna tjelesna temperatura krava u suhostaju iznosila je 38,8°C te je bila značajno manja ($p<0,05$) u odnosu na prosječnu tjelesnu temperaturu svježe oteljenih (39,19°C) i krava u ranoj laktaciji (39,35°C), dok značajne razlike ($p>0,05$) nije bilo između skupine u visokoj laktaciji (38,8°C) i ostale tri skupine (Tablica 5; Grafikon 3.).

Prosjek frekvencije disanja kod krava u suhostaju iznosio je 46,8, u skupini krava u ranoj laktaciji iznosio je 41,1, a u skupini krava u visokoj laktaciji 41,7. Između ovih skupina postojala je značajna razlika ($p<0,05$), dok u skupini svježe oteljenih (43,5) nije bilo ($p>0,05$) značajne razlike u odnosu na ostale tri skupine (Tablica 5; Grafikon 3.).

Tablica 6. Biokemijski pokazatelji u serumu krava tijekom različitih proizvodnih razdoblja

	Suhostaj	Svježe oteljene	Rana laktacija	Visoka laktacija	P-vrijednost
	$\bar{x}$±SD	$\bar{x}$±SD	$\bar{x}$±SD	$\bar{x}$±SD	
AST, (IU/l)	$60,29^{ac}$±7,1	$89,36^{bc}$±23,9	$104,42^{b}$±33,7	$79,6^{c}$±24,7	0,001342
ALT, (IU/l)	$21,28^{a}$±3,7	$16,81^{a}$±4	$16,84^{a}$±3,7	$30,94^{b}$±18,8	0,002859
ALP, (IU/l)	37,83±23,3	30,09±11	25,4±10,1	34,02±22,2	0,260822
GGT,(IU/l)	$16,69^{a}$±4	$14,26^{b}$±2,9	$18,85^{b}$±3,3	$26,4^{b}$±12,7	0,006864
NEFA,(mmol/l)	$0,06^{a}$±0,1	$0,36^{b}$±0,2	$0,6^{c}$±0,4	$0,1^{ad}$±0,2	0,000009
βHB,(mmol/l)	0,58±0,2	0,52±0,3	0,45±0,2	0,6±0,2	0,382055
GLUK,(mmol/l)	3,56±0,3	3,37±0,7	3,1±0,4	3,2±0,5	0,146678
UREA,(mmol/l)	$4,89^{a}$±1,1	$4,0^{b}$±0,8	$3,72^{b}$±0,6	$6,23^{c}$±1,6	0,000020
TP,(g/l)	72,38±7,7	64,58±6,3	71,51±15	79,35±11,9	0,052674
ALB,(g/l)	$30,89^{a}$±2,4	$26,84^{b}$±2,7	$27,85^{b}$±3,8	$29,38^{ab}$±2,8	0,025595
Fe,(µmol/l)	0,17±0,1	0,08±0	0,1±0	0,06±0	0,078705
KOL,(mmol/l)	$2,30^{a}$±0,7	$1,51^{b}$±0,3	$1,93^{ab}$±0,6	$4,58^{c}$±0,9	0,000001
TGC,(mmol/l)	$1,34^{a}$±0,3	$0,94^{b}$±0,2	$1,17^{ab}$±0,3	$2,29^{c}$±0,3	0,000001
HDL,(mmol/l)	$0,89^{a}$±0,3	$0,53^{a}$±0,1	$0,71^{a}$±0,3	$2,3^{b}$±0,7	0,000001
LDL,(mmol/l)	$1,78^{a}$±0,2	$1,23^{b}$±0,3	$1,42^{b}$±0,3	$1,78^{a}$±0,3	0,000003
P, (mmol/l)	$2,23^{a}$±0,1	$1,89^{b}$±0,1	$2,07^{a}$±0,2	$2,13^{a}$±0,3	0,007030
Ca, (mmol/l)	19,36±4,5	12,97±4,9	13,46±4,1	15,33±6,1	0,061214

$\bar{x}$-srednja vrijednost; **SD**-standardna devijacija,**AST**- aspartat aminotransferaza; **ALT**- alanin aminotransferaza; **ALP**- alkalna fosfataza, **GGT**- gama glutamil transferaza, **NEFA**- neesterificirane masne kiseline, **βHB**- beta hidroksimaslačna kiselina, **GLUK**- glukoza, **TP**- ukupne bjelančevine, **ALB**- albumini, **Fe**- željezo, **KOL**- kolesterol, **TGC**- trigliceridi, **P**- fosfor, **Ca**- kalcij

Aktivnost AST-a u serumu krava skupine suhostaj iznosila je 60,29 IU/l, u ranoj laktaciji 104,42 IU/l, u skupini svježe oteljenih 89,36 IU/l, a u skupini krava u visokoj laktacija iznosila je 79,6 IU/l. Značajna razlika ($p<0,05$) utvrđena je između skupine u suhostaju i skupine u ranoj laktaciji te između skupine u ranoj laktaciji i visokoj laktaciji (Tablica 6; Grafikon 2). Aktivnost ALT-a bila najveća u skupini krava u visokoj laktaciji (30,94 IU/l), te je utvrđena značajna razlika ($p<0,05$) između skupine u visokoj laktacije u odnosu na ostale tri skupine krava (Tablica 6; Grafikon 2). Određivanjem aktivnosti ALP-a utvrđeno je da nema značajnih ($p>0,05$) razlika između skupina (Tablica 6; Grafikon 2), dok je aktivnost GGT-a u suhostaju iznosila 16,69 IU/l te su utvrđene značajne razlike ($p<0,05$) u odnosu na ostale tri skupine krava (Grafikon 3; Tablica 6).

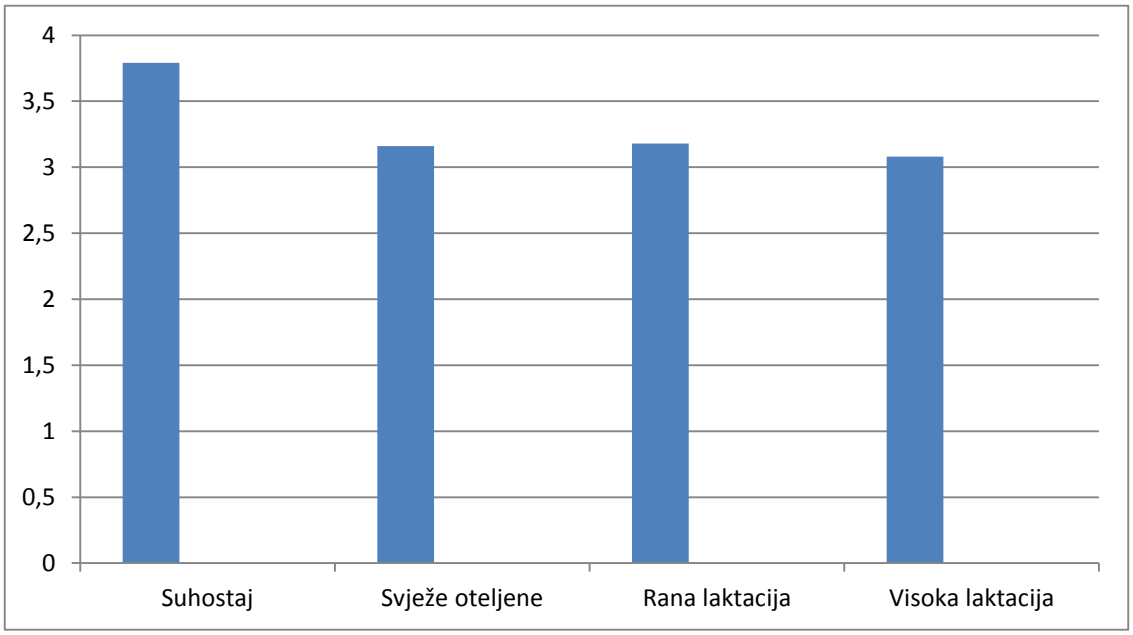
Između prosječnih vrijednosti beta hidroksimaslačne kiseline (βHB-a) nije utvrđena značajna razlika između skupina (Grafikon 6; Tablica 6), dok je između vrijednosti neesterificiranih masnih kiselina skupine krava u suhostaju (0,06 mmol/l), skupine svježe oteljenih krava (0,36 mmol/l), i krava u ranoj laktaciji (0,6 mmol/l), utvrđena značajna ($p<0,05$) razlika. Koncentracija NEFA u serumu krava u visokoj laktaciji iznosila je 0,1 mmol/l, te je utvrđena značajna razlika ($p<0,05$) između ove skupinei skupine svježe oteljenih te krava u ranoj laktaciji, dok značajne razlike nije bilo između skupine u suhostaju i skupine u visokoj laktaciji (Grafikon 5; Tablica 6).

Između prosječnih koncentracija glukoze nisu utvrđene značajne ($p>0,05$) razlike između skupina (Tablica 6; Grafikon7). Prosječna koncentracija ureje u serumu krava u suhostaju iznosila je 4,89 mmol/l, kod svježe oteljenih krava 4,0 mmol/l, kod krava u ranoj laktaciji 3,72 mmol/l, a kod krava u visokoj laktaciji 6,23 mmol/l. Utvrđene su značajne razlike ($p<0,05$) između skupina, osim između skupine svježe oteljenih krava i skupine krava u ranoj laktaciji (tablica 6; grafikon 8). Određivanjem koncentracija ukupnih bjelančevina u serumu krava nisu utvrđene značajne ($p>0,05$) razlike između skupina (Grafikon 9; Tablica 6). Prosječna koncentracija albumina značajno ($p<0,05$) se razlikovala između skupine krava u suhostaju (30,89 mmol/l), skupine svježe oteljenih krava (26,84 mmol/l) i skupine krava u ranoj laktaciji (27,85 mmol/l), dok između prosječne vrijednosti krava u visokoj laktaciji (29,38 mmol/l) i ostale tri skupine krava nisu utvrđene značajne ($p>0,05$) razlike (Grafikon 9; Tablica 6).

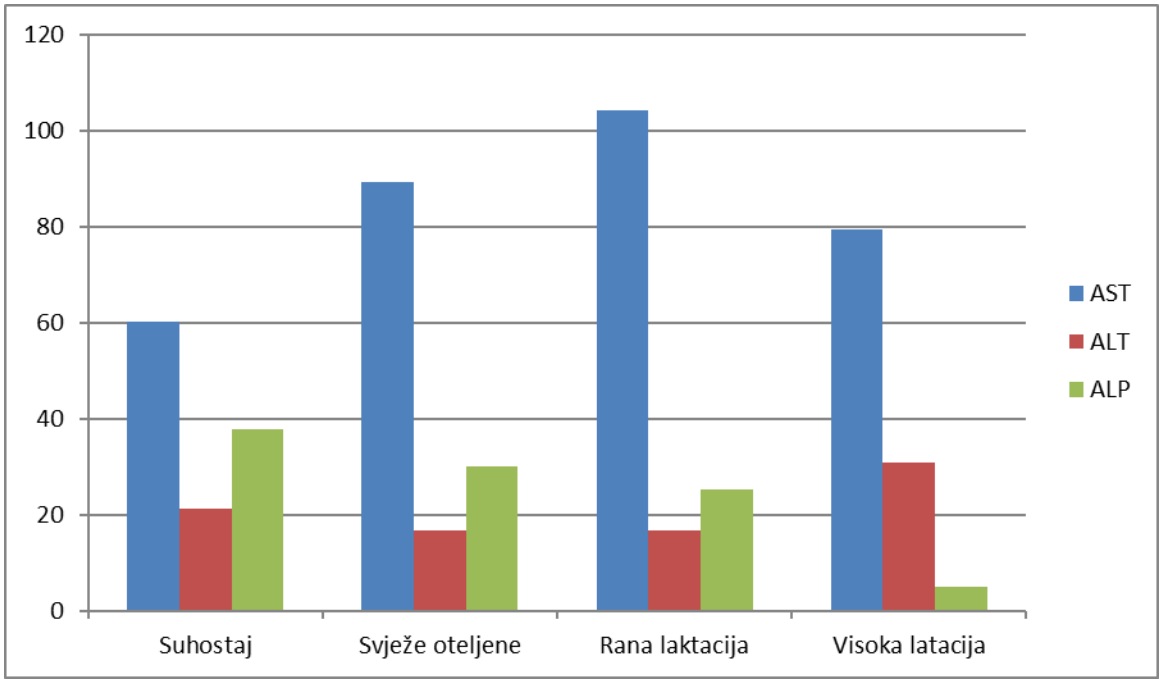
Između prosječnih vrijednosti koncentracija kolesterola u serumu utvrđene su značajne razlike ($p<0,05$) između skupine krava u suhostaju (2,30 mmol/l), svježe oteljenih krava (1,51 mmol/l) i skupine krava u visokoj laktaciji (4,58 mmol/l), a također utvrđena je i značajna razlika ($p<0,05$) između skupina krava u visokoj laktaciji i skupine u ranoj laktaciji (1,93 mmol/l) (Grafikon 10; Tablica 6).Prosječna koncentracija HDL-a u serumu krava u visokoj laktacija (2,3 mmol/l) značajno se razlikovala ($p<0,05$) u odnosu na ostale tri skupine krava (Tablica 6; Grafikon 10) , dok se prosječna koncentracija LDL-au serumu krava u suhostaju (1,78 mmol/l) i skupini krava u visokoj laktaciji (1,78 mmol/l) značajno razlikovala ($p<0,05$) u odnosu na skupinu svježe oteljenih krava (1,23 mmol/l) i skupine krava u ranoj laktaciji (1,42 mmol/l) (Tablica 6; Grafikon 10).

Prosječne koncentracije željeza (Grafikon 11; Tablica 6) i kalcija u serumu (Tablica 6; Grafikon 12) nisu se značajno ($p>0,05$) razlikovale između skupina u pokusu.Između prosječne koncentracije fosfora u serumu skupine svježe oteljenih krava (2,23 µmol/l) i ostalih skupina krava(Tablica 6; Grafikon 12) utvrđena je značajna ($p<0,05$) razlika.

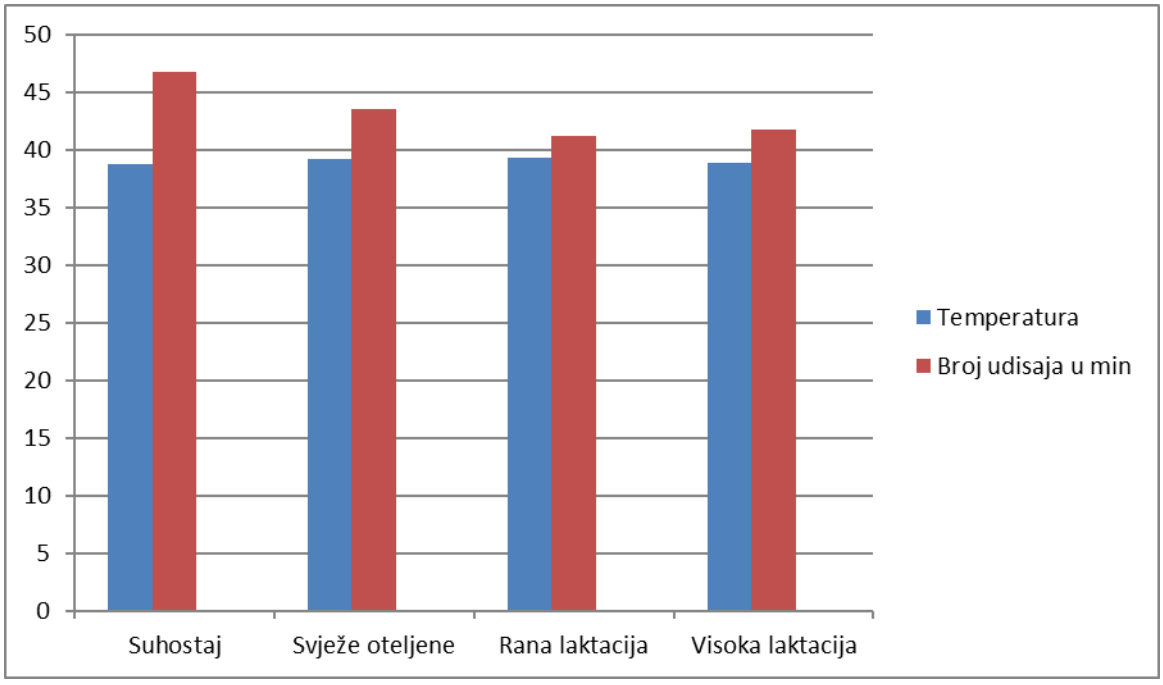
Određivanjem prosječne koncentracije triglicerida u serumu utvrđene su značajne ($p<0,05$) razlike između skupine krava u suhostaju (0,17 mmol/l), svježe oteljenih krava (0,94 mmol/l) i skupine krava u visokoj laktaciji (2,29 mmol/l), a značajna razlika ($p<0,05$) utvrđena je i između skupine u visokoj laktaciji i skupine u ranoj laktaciji (1,17 mmol/l) (Tablica 6; Grafikon 13).



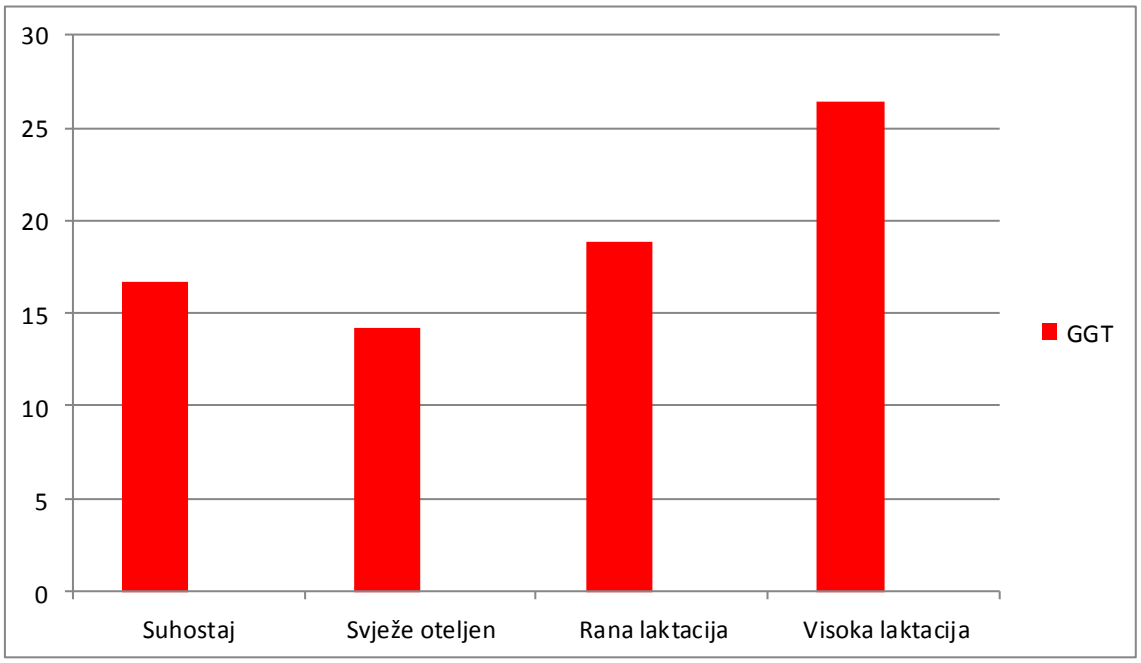
Grafikon 1. Prosjek tjelesne kondicije u različitim proizvodnim razdobljima



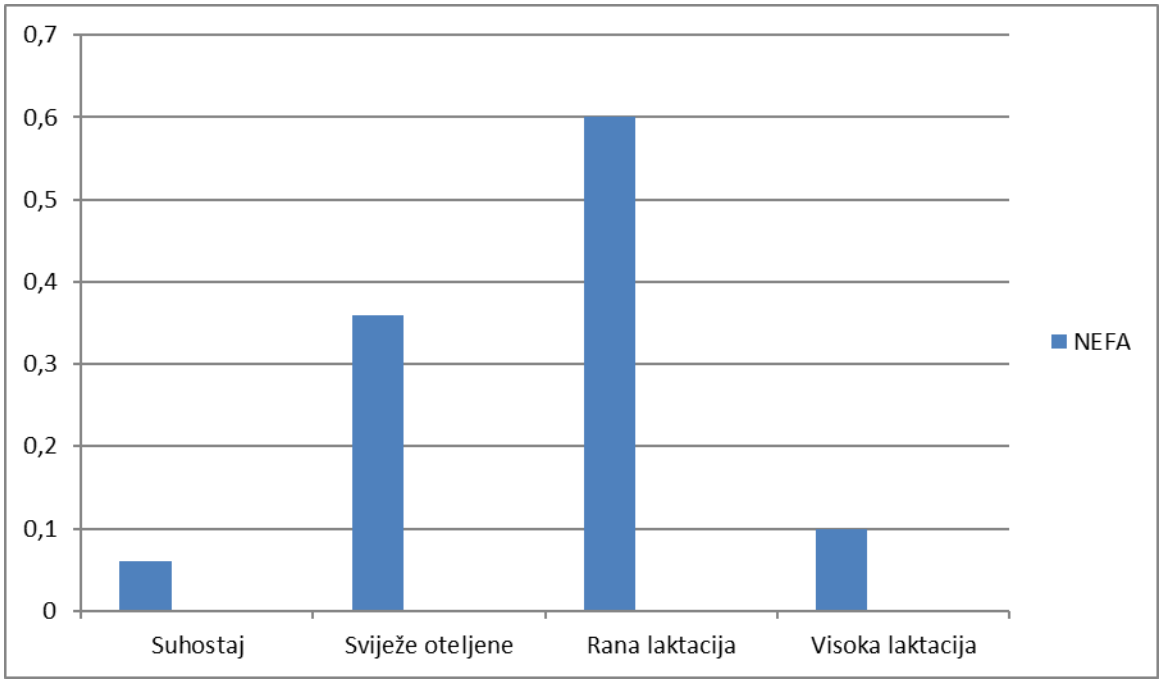
Grafikon 2. Prosječne koncetracije AST, ALT i ALP-a u različitim proizvodnim razdobljima



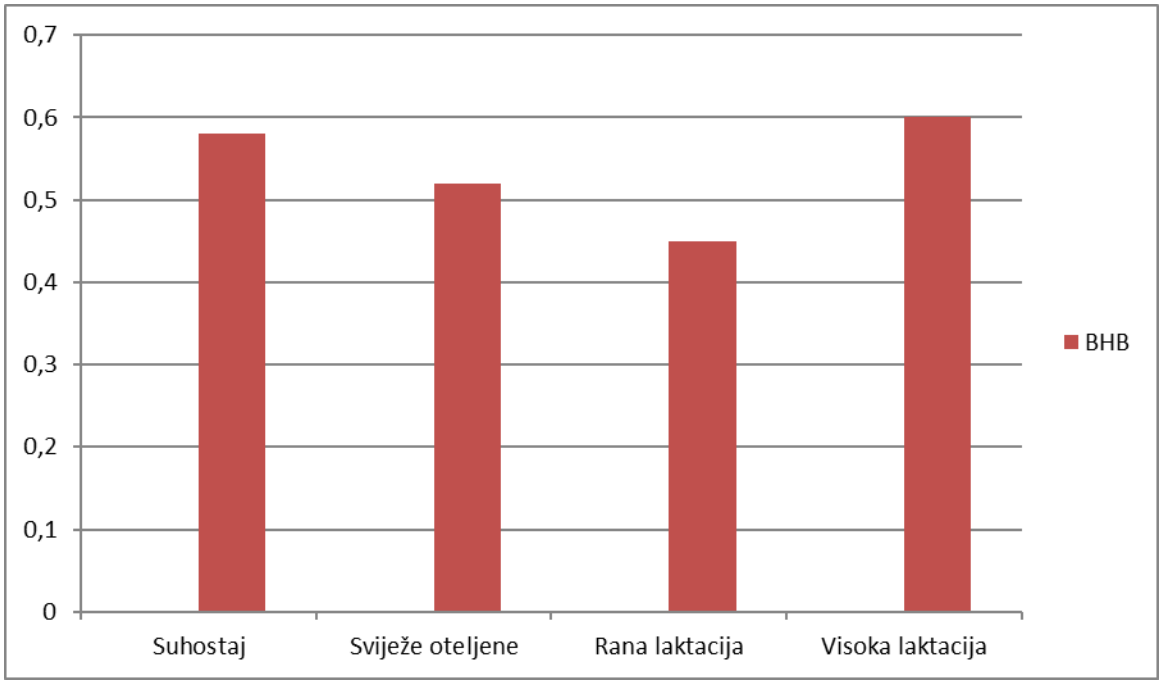
Grafikon 3. Prosječnetjelesne temperature i prosjek broja udisaja/min



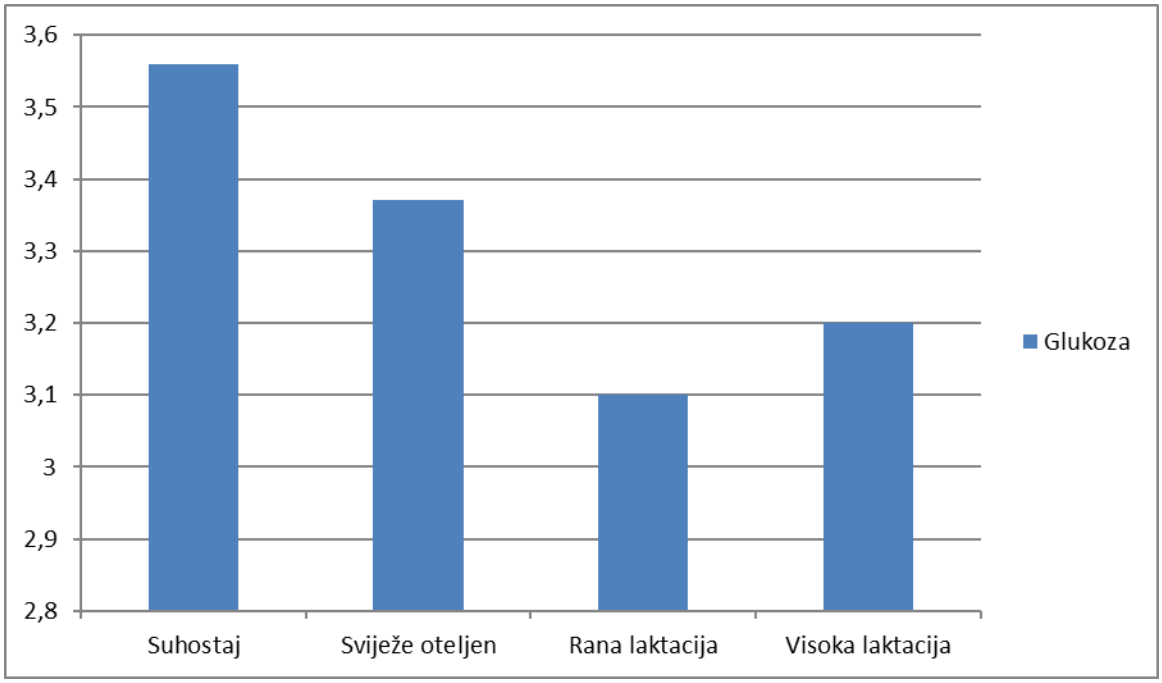
Grafikon 4. Prosječna koncentracija GGT-a u različitim proizvodnim radobljima



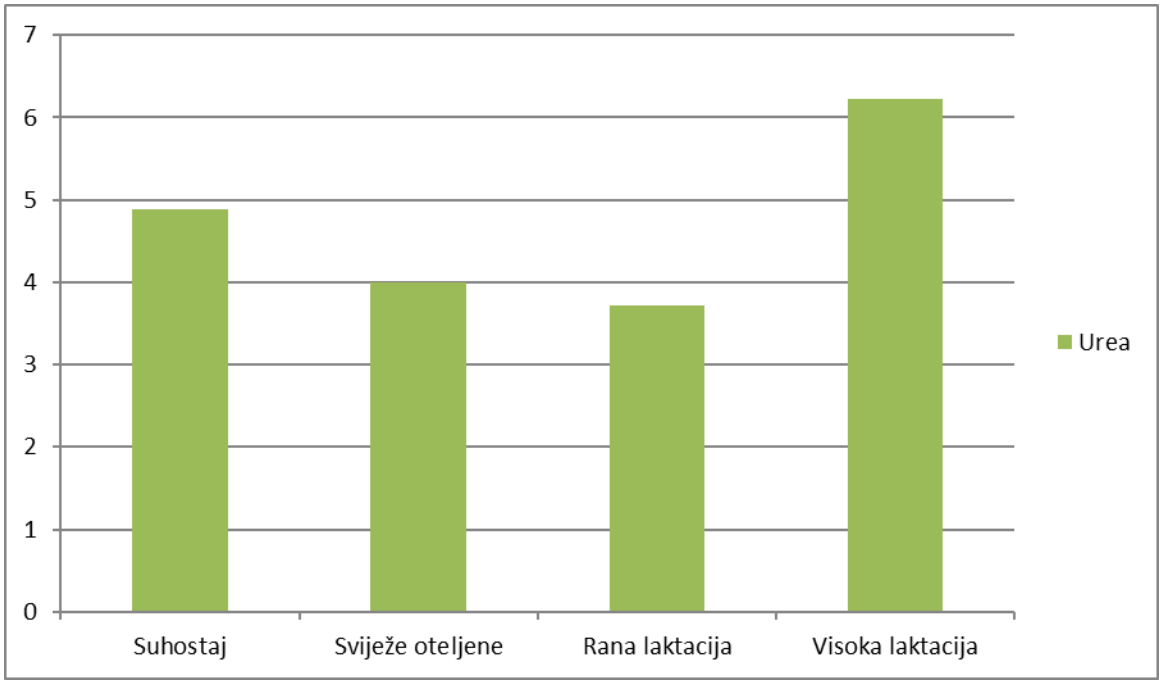
Grafikon 5. Prosječne koncentracije neesterificiranih masnih kiselinau različitim proizvodnim razdobljima



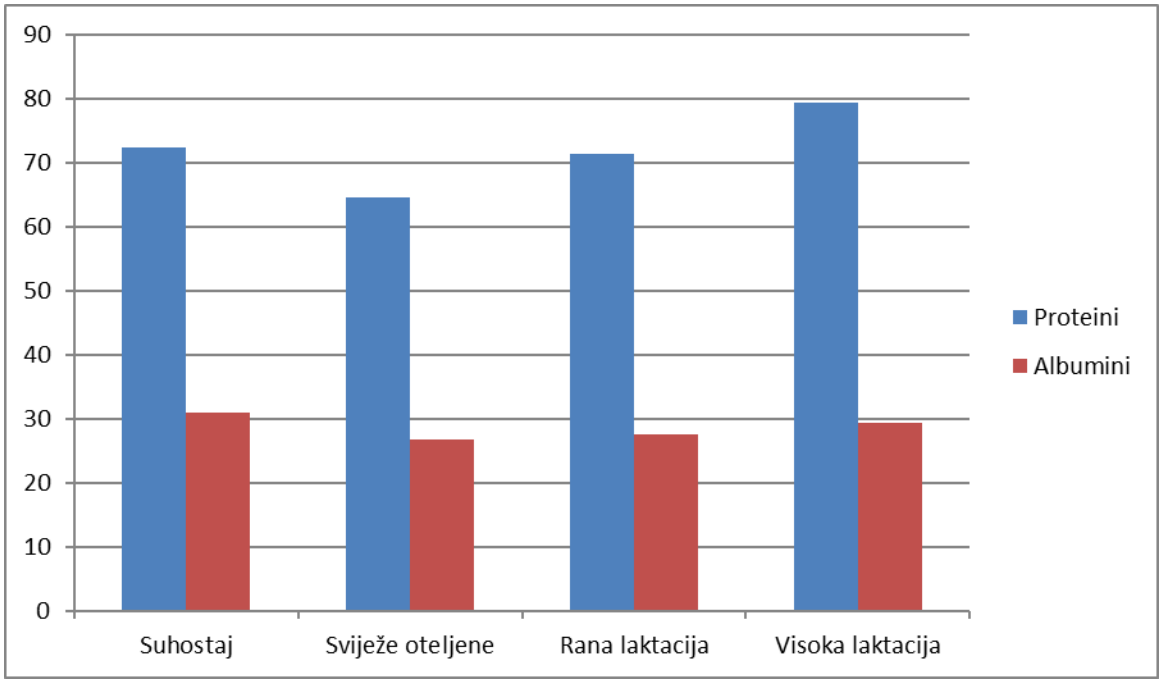
Grafikon 6. Prosječne koncentracije βHB-a u različitim proizvodnim razdobljima



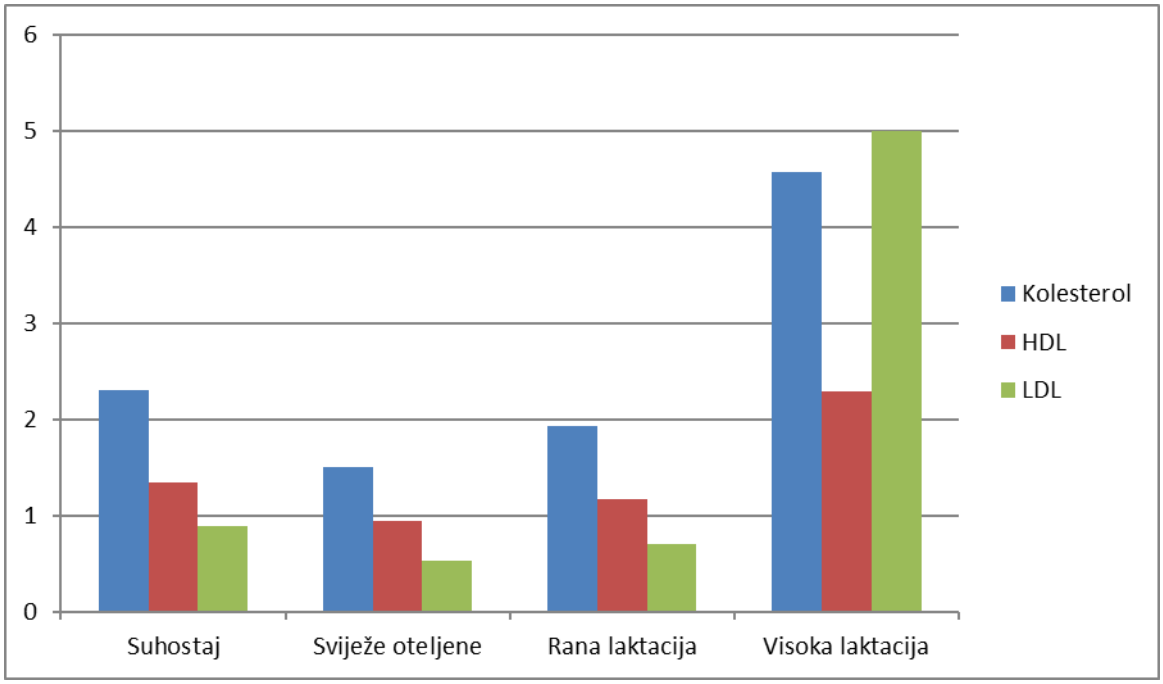
Grafikon 7. Prosječne koncentracije glukoze u različitim proizvodnim razdobljima



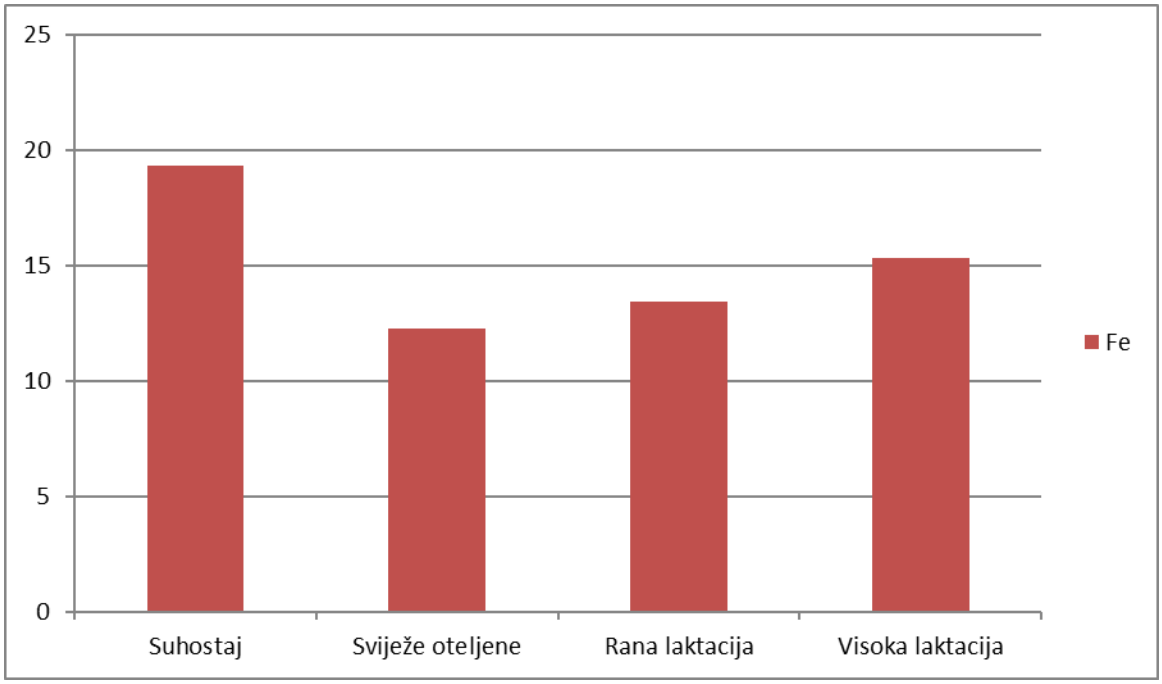
Grafikon 8. Prosječna koncentracija ureje u različitim proizvodnim razdobljima



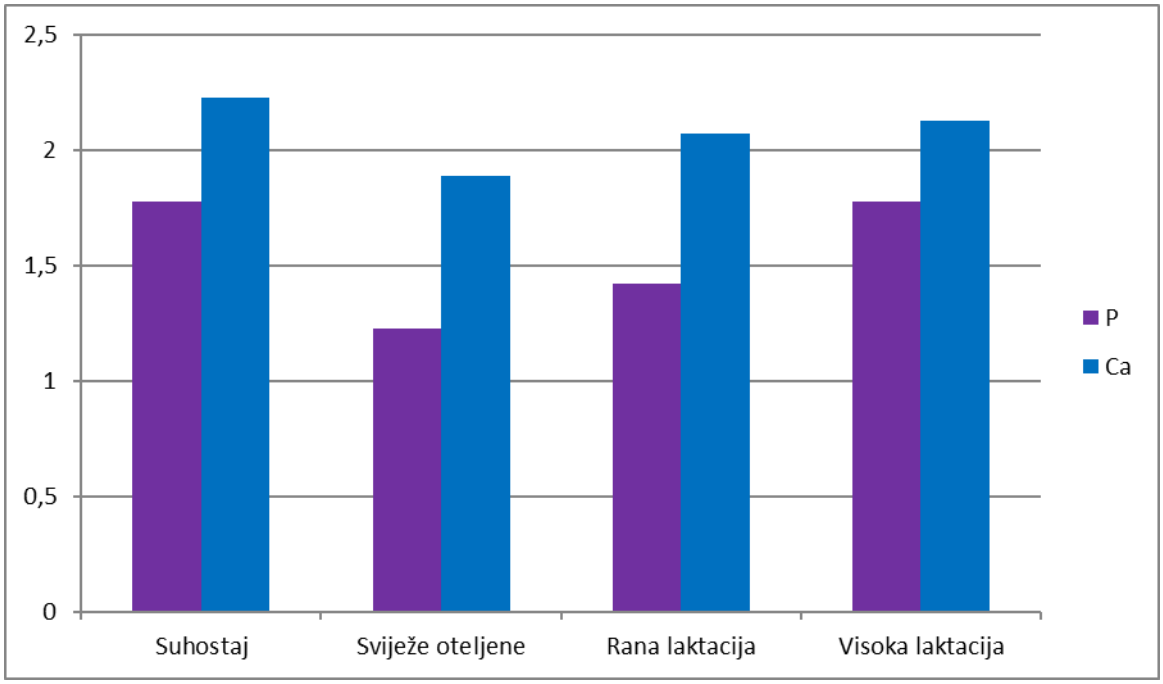
Grafikon 9. Prosječna koncentracija ukupnih proteina i koncentracijaalbumina u različitim proizvodnim razdobljima



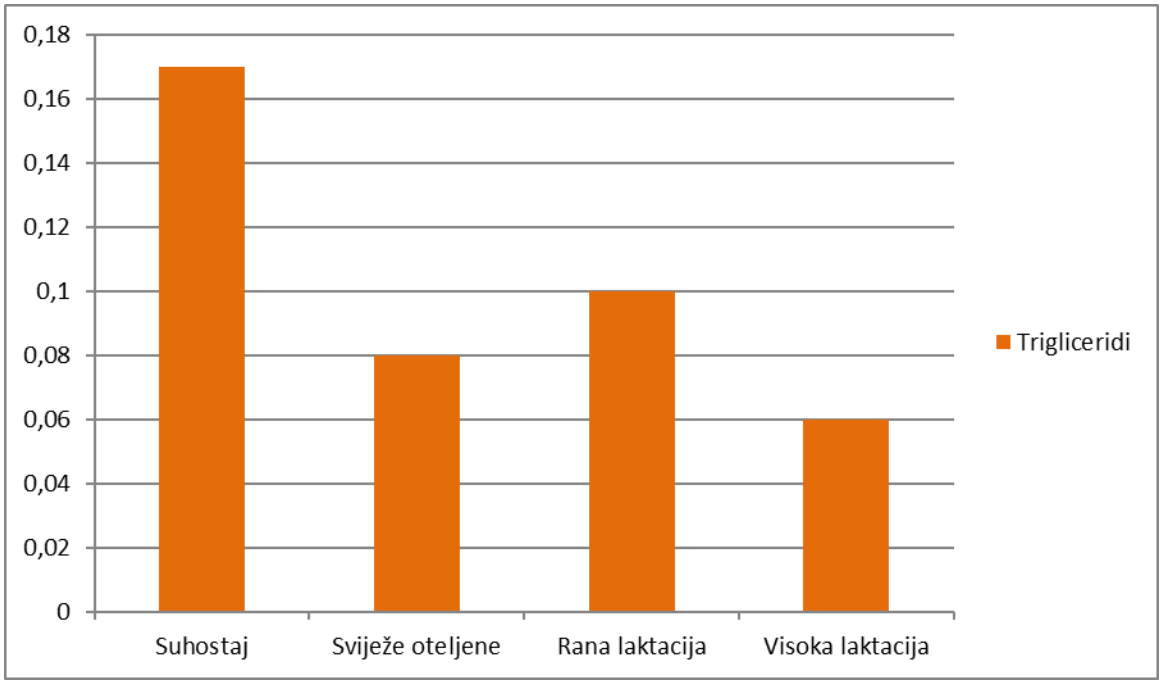
Grafikon 10. Prosječna koncentracija kolesterola, HDL i LDL-a u različitim proizvodnim razdobljima



Grafikon 11. Prosječna koncentracija željeza u različitim proizvodnim razdobljima



Grafikon 12. Prosječna koncentracija Fosfora (P) i Kalcija (Ca) u različitim proizvodnim razdobljima



Grafikon 13. Prosječna koncentracija triglicerida u različitim proizvodnim razdobljima

5. RASPRAVA

Određivanje biokemijskih pokazatelja u serumu krava pruža uvid u metabolički status životinje te moguća subklinička patološka stanja. Kolesterol je bitan sastojak gotovo svih stanica u životinjskom organizmu, a kod biljoždera praktički ne postoji konzumacija kolesterola hranom jer je količina kolesterola u biljkama neznatna (Beitz, 2004.). Kolesterol sintetiziran u jetri može se izlučiti putem žući, poslužiti za sintezu žučnih kiselina ili esterificirati sa višim masnim kiselinama i izlučiti u krv kao dio VLDL. Kim i Suh (2003.) proučavali su utjecaj smanjenja tjelesne kondicije u razdoblju nakon poroda na nekoliko biokemijskih pokazatelja u krvi, kao i na učestalost pojave poslijeporođajnih oboljenja te reproduktivne karakteristike kod holštajn krava. Utvrdili su da je mjesec dana nakon poroda koncentracija ukupnog kolesterola bila niža u skupini krava s velikim smanjenjem tjelesne kondicije nego u skupini sa osrednjim smanjenjem tjelesne kondicije, te zaključuju da je značajno smanjenje BCS-a u početku laktacije povezano sa većom učestalošću poslije porođajnih metaboličkih i reproduktivnih poremećaja, dužim servis periodom i nižim razinama kolesterola tijekom prvog mjeseca nakon poroda. U našem istraživanju utvrđena je najveća razina kolesterola kod krava u skupini visoke laktacije, dok je najbolja tjelesna kondicija utvrđena kod krava u suhostaju. Pad koncentracije kolesterola nakon poroda utvrđen je kod krava u skupini svježe oteljenih, kao i pad tjelesne kondicije (Tablica 6; Grafikon 1 i 10).

Porast triglecerida u plazmi rezultat je njihove povećane resorpcije, smanjene sinteze u jetri i povećanog opsega razgradnje triglicerida. Kim i Suh (2003.) nisu utvrdili utjecaj smanjena stupnja tjelesne kondicije u razdoblju nakon poroda na razinu triglicerida. Lammonglia i sur. (1996.) utvrdili su da koncentracija triglecerida u krvi krava ne ovisi o količini masti u hrani. Na kraju steonosti, nakon zasušenja u krvi mliječnih krava utvrđen je značajni pad razine triglicerida (Tainturier i sur., 1984.). U ovom istraživanju, u prvim danima laktacije kod holštajnskih krava utvrđen je značajan pad razine serumskih triglicerida, što se može povezati sa njihovom ubrzanom potrošnjom za podmirenje energetskih potreba i sintezu mliječnih masti (Tablica 6; Grafikon 13).

Rabelo i sur. (2005.) utvrdili su da hranidba mliječnih krava obrocima sa visokom energetskom vrijednošću rezultira nižom koncentracijom NEFA sedmog dana po teljenju. Holtenius (1989.) je u krvnoj plazmi krava u razdoblju oko teljenja utvrdio porast NEFA od šestog tjedna prije teljenja do prvog dana nakon teljenja, te njihov pad poslije teljenja. Ovim

istraživanjem utvrđena je u skupini svježe oteljenih krava kod pojedinih jedinki viša koncentracija neesterificiranih masnih kiselina, što govori da su u negativnom energetskom balansu. To stanje ne smije trajati dugo jer izravno utječe na proizvodnju mlijeka. U skupini krava u ranoj laktaciji nastavlja se trend negativnog energetskog balansa, što znači da krave još nisu uspostavile ravnotežu između unosa hrane i potreba, tj. troše više nego nadoknađuju hranom. Za ovu skupinu krava posebnu pažnju posvetiti sastavljanju obroka jer 50% krava ima povišenu koncentraciju NEFA (Tablica 6; Grafikon 5).

Stanje jetre moguće je procijeniti aktivnošću enzima gama-glutamiltransferazom (GGT), aspartat aminotransferazom (AST), alanin aminotransferazom (ALT) i sorbitol dehidrogenazom (SDH). Sindrom omašćenja jetre značajno mijenja aktivnosti pojedinih enzima i koncentracije metabolita u krvi. Tjedan dana nakon teljenja povećavaju se koncentracije slobodnih masnih kiselina, bilirubina i aktivnost AST-a, a smanjuje se koncentracija glukoze, kolesterola, albumina, magnezija i inzulina (Morrow, 1976.). Sindrom omašćenja jetre konačna je posljedica negativnoga energetskog balansa, koji se javlja kod visokoproizvodnih muznih krava, uslijed nedovoljne konzumacije energije hranom, a velikih potreba zbog opsežne proizvodnje mlijeka (Reid i Roberts, 1982.). Povećana mobilizacija masnih rezervi dovodi do nemogućnosti jetre da sve trigliceride otpusti u obliku lipoproteina niske gustoće pa ih pohranjuje u vlastitom tkivu. U našem istraživanju aktivnost AST-a krava u suhostaju bila je unutar referentnih vrijednosti, dok je u ostalim skupinama bila iznad referentnih vrijednosti. U skupini svježe oteljenih kod dvije krave od njih dvanaest aktivnost je bila iznad referentnih vrijednosti, a u skupini krava u ranoj laktacije vrijednosti su bile iznad referentnoga raspona kod četiri krave, dok su u skupini krava u visokoj laktaciji bile unutar referentnih vrijednosti. Koncentracije βHB-a u serumu krava u suhostaju bile su u pet slučajeva iznad referentnih vrijednosti, a u skupini svježe oteljenih i u skupini krava u ranoj laktacije po kod jedne krave, dok su u skupini visoke laktacije sve krave bile unutar referentnih vrijednosti (Tablica 6; Grafikon 2). Kao zaseban test koncentracija glukoze nije dobar pokazatelj energetskoga statusa zbog jake homeostatske kontrole, no u kombinaciji s drugim pokazateljima može upućivati na određene bolesti (dijabetes tipa I i II, ketoza). U našem istraživanju vrijednosti glukoze u serumu krava u suhostaja bile su unutar referentnih vrijednosti, dok su kod dvije krave u skupini svježe oteljenih vrijednosti bile iznad referentnih, kao i kod jedne krave u ranoj laktaciji (Tablica 6; Grafikon 7).

Hipokalcemija je nedostatak kalcija u serumu krava, pokazatelj hipokalcemije je koncentracija kalcija u serumu ispod 1,5 mmol/l, a kod kliničke hipokalcemije razina kalcija može pasti i ispod 0,25 mmol/l (DeGaris i Lean, 2008.). Pospartalna hemoglobinurija je specifični sindrom kod kojega također dolazi do snižavanja koncentracije fosfora u serumu na 0,15-1,0 mmol/l (Lean i sur., 2013).U našem istraživanju najmanja srednja vrijednost Ca bila je 1,89 mmol/l u skupini krava svježe oteljenih, dok je nedostatak koncentracije P utvrđen kod tri skupine krava, u svježe oteljenih, ranoj laktaciji i u visokoj laktaciji. Najniža koncentracija P iznosila je 1,23 mmol/l u skupini svježe oteljenih krava. Ispod minimalne granice referentnoga raspona koncentracija fosfora u serumu bila je kod devet svježe oteljenih krava, pet krava u ranoj laktaciji i kod jedne u visokoj laktaciji (Tablica 6; Grafikon 12).

Ukupni proteini i albumini odraz su dostupnosti aminokiselina te njihova koncentracija pada u slučajevima deficita bjelančevina u obroku. Pad koncentracije uslijedi kao posljedica deficita kroz određeno vremensko razdoblje. Smanjenje koncentracije željeza i vitamina A, isto tako može predstavljati nedostatak bjelančevina u obroku. Smanjenje koncentracije ovih pokazatelja može nastati ne samo zbog deficita u hrani, već i poremećene funkcije jetre (Madej i sur,. 1993.). U našem istraživanju u skupini svježe oteljenih krava utvrđen je manjak ukupnih proteina i albumina pa bi trebalo osnovni obrok izbalansirati s obzirom na udio energije i proteina. Utvrđen je i manjak željeza kod pojedinih krava, te snižena koncentracija fosfora i kalcija. Trebalo bi korigirati mineralno-vitaminski dodatak, kao i količinu koncentriranog dijela obroka te uvesti kontrolu količine pojedene hrane, ako ostaje više od 5% obroka. Prevelika količina ostatka može upućivati na to da obrok nije dobro izbalansiran i da ga krave nerado jedu (Tablica 6; Grafikon 9, 11 i 12).

6. ZAKLJUČAK

Određivanje biokemijskih pokazatelja u serumu krava pruža uvid u metabolički status životinje te moguća subklinička patološka stanja. U ovom radu istražena su kretanja biokemijskih pokazatelja u krvnom serumu krava u različitim stadijima. Istraživanje je provedeno na 12 krava u suhostaju, koje su praćene i nakon teljenjate tijekom laktacije.

Provedenom analizom utvrđeno je da su krave u stadiju suhostaja u zadovoljavajućem energetskom, proteinskom i mineralnom balansu.

U skupini svježe oteljenih krava, u 50% životinja utvrđeno je nezadovoljavajuće stanje energetskog balansa, proteinskog i mineralnog stanja.

U stadiju rane laktacije utvrđen je trend negativnog energetskog balansa, niska koncentracija albumina i proteina, a nije zadovoljavajući ni mineralni status.

Kod krava u visokoj laktaciji utvrđena bolja energetska i proteinska opskrbljenost u odnosu na početak laktacije. Visoka koncentracija ureje i manjak fosfora ukazuju da je proteina u suvišku u odnosu na energiju, pa bi bila poželjna korekcija obroka.

Odabrana serija analita pružila je dobar uvid u hranidbeno i zdravstveno stanje životinja. Određivanje metaboličkog profila pokazao se učinkovitim dijagnostičkim sredstvom za rano otkrivanje metaboličkih poremećaja.

7. LITERATURA

1. Babić, K., Herak, M., Tušek, T. (2003.): Anatomija i fiziologija domaćih životinja. Zrinski d.d.,Čakovec, Čakovec.

2. Beitz, D. C. (2004.): Lipid Metabolism. U: Rece, W. O. (ur.) Dukes' Physiology of Domestic Animals. Cornell University Press, Ithaca, London, 516-534.

3. Bruss, M. L. (1997.): Lipids and Ketones. U: Kaneko, J. J., Harvey, J. W., Bruss, M. L. (ur.) Clinical Biochemistry of Domestic Animals. Academic press, London, New York, Tokyo, 83-111.

4. DeGaris, P. J., Lean, I. J. (2008.): Milk fever in dairy cows, a review of pathophysiology and control principles. The Veterinary Journal, 176(1): 58-69.

5. Domaćinović, M. (2006.): Hranidba domaćih životinja. Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek.

6. Drackley, J. K., Richard, M. J., Young, J. W. (1990): In vitro production of betahydroxybutyrate from 1,3-butanediol by bovine liver, rumen mucosa, and kidney. Journal of Dairy Science, 73: 679-682.

7. Filipović, N., Stojević, Z., Bačar, H. L. (2015.): Energetski metabolizam u krava tijekom razdoblja rane laktacije. https://bib.irb.hr/datoteka/304397.praxis-n.filipovic-55-1-2.pdf On line 9.3.2015.

8. Herak, P. V., Grabarević, Ž., Kos, J. (2012.): Veterinarski priručnik. Veterinarski fakultet Zagreb, Zagreb.

9. Herrera, E., Lasuncion, M. A., Gomez-Coronado, D., Aranda, P., Lopez-Luna, P., Maier, I. (1988): Role of lipoprotein lipase activity on lipoprotein metabolism and the fate of circulating triglycerides in pregnancy. Am. J. Obstet. Gynecol., 158: 1575-1583.

10. Holtenius, P. (1989.): Plasma lipids in normal cows around parturition and in cows withmetabolic disorders with and without fatty liver. Acta Veterinaria Scandinavica, 30: 441-445.

11. Goff, J. P., Horst, R. L. (1997.): Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. Journal of Dairy Science, 80: 1260-1268.

12. Guyton, C. A., Hall, E. J. (2006.): Medicinska fiziologija. Medicinski fakultet Zagreb, Zagreb.

13. Kaneko, J. J., Harvey, J. W., Bruss, M. L. (1997.): Clinical Biochemistry of domestic animals. Academic Press, San Diego.

14. Kim, T. H., Suh, G. H. (2003.): Effect of the amount of body condition loss from the dry to near calving periods on the subsequent body condition change, occurrence of postpartum diseases, metabolic parameters and reproductive performance in Holstein dairy cows. Theriogenology, 60: 1445-1456.

15. Lean, I. J., Van Saun, R. J., DeGaris, P. (2013.): Mineral and Antioxidant Management of Transition Dairy Cows. Food Animal Practice. Veterinary Clinics of North America, 29(2): 367-386.

16. Ingvartsen, K. L., Andersen, J. B. (2000.): Integration of metabolism and intake regulation: A review focusing on periparturient animals. Journal of Dairy Science, 83: 1573-1597.

17. Jenness, R. (1986.): Lactational performance of various mammalian species. Journal of Dairy Science, 698: 69-885.

18. Jovanović M., Nikolić B., Savić V., Pavlović O., Anojčić M. (1984.): Fiziologija domaćih životinja. Beograd-Zagreb, Zagreb.

19. Madej E., Stec A., Filar J. (1993.): Perinatal metabolic disorders in primigravidae cows of high milking yield. The Mediterranean Wetlands Initiative, 49 (9): 403-408.

20. McGarry, J. D., Foster, D. W. (1969.): In support of the roles of malonyl-CoA and carnitine acyltransferase I in the regulation of hepatic fatty acid oxidation and ketogenesis. Journal of Biotechnology, 254: 8163-8168.

21. Morrow, D.A. (1976.): Fat cow syndrome. Journal of Dairy Science, 59: 16-259.

22. Slavča, Mr., Hristov, V., Bešlin, M. R. (1991.): Stres domaćih životinja. Beograd, Beograd

23. Neely, J. R., Rovetto, M. J., Oram, J. F. (1972.): Myocardial utilization of carbohydrate and lipids. Progress in Cardiovascular Diseases, 15: 289-329.

24. Payne, J. M., Payne, S. (1987.): The Metabolic Profile Test. Oxford University Press, Oxford, New York, Tokyo.

25. Rabelo, E., Rezende, R. L., Bertics, S. J., Grummer, R. R. (2005.): Effects of pre- and postfreshtransition diets varying in dietary energy density on metabolic status of periparturientdairy cows. Journal of Dairy Science, 88: 4375-4383.

26. Ramadan, P., Harapin, I. (1998.): Interna klinička propedeutika domaćih životinja. U: Ramadan, P. i Harapin, I. (ur.). Pretraga krvi i krvotvornih organa. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Zagreb, 115-144.

27. Ramasamy, S., Boissonneault, G. A., Decker, E. A., Hennig, B. (1991.): Linoleic acid-induced endothelial cell injury: role of membrane-bound enzyme activities and lipid oxidation. Journal of Biotechnology, 6: 29-35.

28. Reid I. M., Roberts C.J. (1982.): Fatty liver in dairy cows. In Practice, 4: 16-48.

29. StatSoft, Inc. (2007.): STATISTICA (data analysis software system), version 8.0. www.statsoft.com.

30. Serra, D., Casals, N., Asins, G., Royo, T., Ciudad, C.J., Hegardt, F.G., (1993.): Regulation of mitochondrial 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A synthase protein by starvation, fat feeding, and diabetes. Archives of Biochemistry, 307: 40-45.

31. Stead, D., Welch, V. A. (1975.): Lipid composition of bovine serum lipoproteins. Journal Dairy Science, 58: 122-127.

32. Tainturier, D., Braun, J. P., Rico, A. G., Thouvenot, J. P. (1984.): Variations in bloodcomposition in dairy cows during pregnancy and after calving. Research Veterinary Science, 37: 129-131.

33. Tall, A., Lange, R. Y. (1978): Interaction of cholesterol, phospholipid and apoprotein in high density lipoprotein recombinants. Biochim. Biophys. Acta., 513: 185-197.

34. Valerra, A., Pelegrin, M., Asins, G., Fillat, C., Sabater, J., Pujol, A., Hegardt, F. G., Bosch, F. (1994.): Overexpression of mitochondrial 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase in transgenic mice causes hepatic hyperketogenesis. Journal of Biotechnology, 269: 6267-6270.

35. Van Saun R.J. (2004). Metabolic Profiling. U: Andrews A.H. (ur.) Bovine Medicine Diseases and Husbandry of Cattle. Journal Blackwell Science, 153-159.

36. Vernon, R. G. (2005.): Lipid metabolism during lactation: a review of adipose tissue-liver interactions and the development of fatty liver. Journal Dairy Research, 72: 460-469.

37. Zammit, V. A. (1983.): Regulation of hepatic fatty acid oxidation and ketogenesis. Journal Proceedings of the Nutrition Society, 42: 289-302.

8. SAŽETAK

Određivanje biokemijskih pokazatelja je niz specifičnih analitičkih pretraga koje se mogu odrediti ili u zajedničkom uzorku serumu skupine životinja ili u serumu pojedinih jedinki. U našem radu utvrđena su kretanja biokemijskih pokazatelja u krvnom serumu krava u različitim stadijima proizvodnje. Istraživanje je provedeno na 12 krava u suhostaju, koje su praćene i nakon telenja te tijekom laktacije. Uzorci krvi su uzimani iz repne vene (*vena caudalis*) a potom centrifugirani na 3000 okr/ 10 min. U dobivenome serumu određeni su sljedeći parametri: glukoza, aspartat aminotransferaza, alanin aminotrasferaza, alkalna fosfataza, gama glutamil transferaza,urea, ukupne bjelančevine,neesterificirane masne kiseline, beta hidroksimaslačna kiselina, albumini, željezo, kolesterol, HDL, LDL, trigliceridi, fosfor i kalcij. Osim biokemijskih parametara mjerena je i frekvencija disanja, tjelesna temperatura te određivana tjelesna kondicija. Provedenom analizom utvrđeno je da su krave u stadiju suhostaja u zadovoljavajućem energetskom, proteinskom i mineralnom balansu, dok je kod krava u stadiju svježe oteljenih, kod pojedinih krava utvrđeno nezadovoljavajuće stanje energetskog balansa te proteinskog i mineralnog statusa. U stadiju rane laktacije nastavio se trend negativnog energetskog balansa, utvrđena je niska koncentracija albumina i proteina, a nije bio zadovoljavajući mineralni status, dok je kod krava u visokoj laktaciji utvrđena bolja energetska i proteinska opskrbljenost u odnosu na početak laktacije. Visoka koncentracija ureje i manjak fosfora ukazuju na višak proteina u odnosu na energiju, pa bi bila poželjna ozbiljna korekcija obroka.

Ključne riječi: mliječne krave, metabolički status, biokemijski pokazatelji, laktacija.

9. SUMMARY

Determination of biochemical indicators is a number of specific analytic tests that can be determined in the pooled sample serum of animals or in the serum of some individuals. In our study we have movement biochemical parameters in the blood serum of cows at different stages. The study was conducted on 12 cows in the dry period, which were followed on, freshly calved cows and the cows in early lactation, and 12 randomly selected cows in the high stage of lactation. Blood samples were taken by puncture of the tail vein (vena caudalis) and then centrifuged at 3000 rpm/10 min. In the obtained serum there were determined following parameters: glucose, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, alkaline phosphatase, gamma glutamyl transferase, urea, total protein, BEFA, beta-hydroxybutyric acid, albumin, iron, cholesterol, HDL, LDL, triglycerides, calcium and phosphorus. Except of biochemical parameters, respiratory rate, temperature and score of BSC were measured. The conducted analysis revealed that the cows in the dry period had a satisfactory stage of energy, protein and mineral balance, while cows in freshly calved stage, some cows, had unsatisfactory state of energy balance, proteins and minerals. In early lactation stage trend of negative energy balance continues, concentration of albumin and protein is low, and mineral status is unsatisfying, while the cows in the top of lactation have better energy and protein supply than at the beginning of lactation. High concentration of urea and phosphorus deficency indicates that the protein is in excess in regards of energy, so we should take a serious step in correcting a diet.

Key words: dairy cows, metabolic profile, biochemical parameters, lactation.

10. POPIS TABLICA

Tablica 1. Referentne vrijednosti za biokemijske pokazatelje u serumu krava pred kraj suhostaja i laktacije. *Stranica 1.*

Tablica 2. Fiziološke vrijednosti temperature tijela i frekvencije disanja u domaćihživotinja. *Stranica 5.*

Tablica 3. Tablica 3. Sastav dnevnog obroka za krave u suhostaju i laktaciji. *Stranica 18.*

Tablica 4. Energetska i hranjiva vrijednost smjese za mliječne krave. *Stranica 19.*

Tablica 5. Prosječne vrijednosti tjelesne kondicije, tjelesne temperature i frekvencije disanja krava tijekom različitih proizvodnih razdoblja. *Stranica 22.*

Tablica 6. Biokemijski pokazatelji u serumu krava tijekom različitih proizvodnih razdoblja. *Stranica 23.*

11. POPIS SLIKA

Slika 1. Mjerenje temperature. *Stranica 4.*

Slika 2. Mjerenje frekvencije disanja. *Stranica 19.*

Slika 3. Uzimanje krvi iz repne vene (*vena caudalis*). *Stranica 20.*

Slika 4. Zamrznuti uzorci seruma. *Stranica 20.*

Slika 5. Biokemijski analizator Olympus AU400. *Stranica 21*.

12. POPIS GRAFIKONA

Grafikon 1. Prosjek tjelesne kondicije u različitim proizvodnim razdobljima. *Stranica 25.*

Grafikon 2. Prosječna koncentracija AST, ALT i ALP-a u različitim proizvodnim razdobljima. *Stranica 26.*

Grafikon 3. Prosječne tjelesne temperature i prosjek broja udisaja/min u različitim proizvodnim razdobljima. *Stranica 27.*

Grafikon 4. Prosječne koncentracije GGT-a u različitim proizvodnim razdobljima. *Stranica 27.*

Grafikon 5. Prosječne koncentracije neesterificiranih masnih kiselinau različitim proizvodnim razdobljima. *Stranica 27.*

Grafikon 6. Prosječne koncentracije βHB-a u različitim proizvodnim razdobljima. *Stranica 28.*

Grafikon 7. Prosječne koncentracije glukozeu različitim proizvodnim razdobljima. *Stranica 29.*

Grafikon 8. Prosječne koncentracije ureje u različitim proizvodnim razdobljima. *Stranica 29.*

Grafikon 9. Prosječna koncentracija ukupnih proteina i koncentracija albumina u različitim proizvodnim razdobljima. *Stranica 29.*

Grafikon 10. Prosječne koncentracije kolesterola, HDL i LDL-au različitim proizvodnim razdobljima. *Stranica 30.*

Grafikon 11. Prosječne koncentracije željeza u različitim proizvodnim razdobljima. *Stranica 30.*

Grafikon 12. Prosječna koncentracija fosfora (P) i kalcija (Ca) u različitim proizvodnim razdobljima. *Stranica 31.*

Grafikon 13. Prosječne koncentracije triglicerida u različitim proizvodnim razdobljima. *Stranica 31.*

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku **Diplomski rad**
Poljoprivredni fakultet u Osijeku
Sveučilišni diplomski studij, smjer Specijalna zootehnika

METABOLIČKI PROFIL KRAVA PASMINE HOLSTEIN NA FARMI VRANA d.o.o.

Franjo Tašić

Sažetak: Određivanje biokemijskih pokazatelja je niz specifičnih analitičkih pretraga koje se mogu odrediti ili u zajedničkom uzorku serumu skupine životinja ili u serumu pojedinih jedinki. U našem radu utvrđena su kretanja biokemijskih pokazatelja u krvnom serumu krava u različitim stadijima proizvodnje. Istraživanje je provedeno na 12 krava u suhostaju, koje su praćene i nakon telenja te tijekom laktacije. Uzorci krvi su uzimani iz repne vene (*vena caudalis*) a potom centrifugirani na 3000 okr/ 10 min. U dobivenome serumu određeni su sljedeći parametri: glukoza, aspartat aminotransferaza, alanin aminotrasferaza, alkalna fosfataza, gama glutamil transferaza,urea, ukupne bjelančevine,neesterificirane masne kiseline, beta hidroksimaslačna kiselina, albumini, željezo, kolesterol, HDL, LDL, trigliceridi, fosfor i kalcij. Osim biokemijskih parametara mjerena je i frekvencija disanja, tjelesna temperatura te određivana tjelesna kondicija. Provedenom analizom utvrđeno je da su krave u stadiju suhostaja u zadovoljavajućem energetskom, proteinskom i mineralnom balansu, dok je kod krava u stadiju svježe oteljenih, kod pojedinih krava utvrđeno nezadovoljavajuće stanje energetskog balansa te proteinskog i mineralnog statusa. U stadiju rane laktacije nastavio se trend negativnog energetskog balansa, utvrđena je niska koncentracija albumina i proteina, a nije bio zadovoljavajući mineralni status, dok je kod krava u visokoj laktaciji utvrđena bolja energetska i proteinska opskrbljenost u odnosu na početak laktacije. Visoka koncentracija ureje i manjak fosfora ukazuju na višak proteina u odnosu na energiju, pa bi bila poželjna ozbiljna korekcija obroka.

Rad je izrađen pri: Poljoprivredni fakultet u Osijeku

Mentor: Doc.dr.sc. Mislav Đidara

Broj stranica: 46
Broj grafikona i slika:13/4
Broj tablica: 6
Broj literaturnih navoda: 37
Broj priloga: 0
Jezik izvornika: Hrvatski

Ključne riječi: mliječne krave, metabolički status, biokemijski pokazatelji, obrok.

Datum obrane:

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. Prof.dr.sc. Marcela Šperanda, predsjednica

2. Doc.dr.sc. Mislav Đidara, mentor

3. Prof.dr.sc. Pero Mijić, član

Rad je pohranjen u: Knjižnica Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, Sveučilištu u Osijeku, Kralja Petra Svačića 1d.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek **Graduate thesis**
Faculty of Agriculture
University Graduate Studies,
Plant production, course Special zootechnique

METABOLIC PROFILE OF HOLSTEIN COWS ON DAIRY FARM VRANA d.o.o.

Franjo Tašić

Abstract: Determination of biochemical indicators is a number of specific analytic tests that can be determined in the pooled sample serum of animals or in the serum of some individuals. In our study we have movement biochemical parameters in the blood serum of cows at different stages. The study was conducted on 12 cows in the dry period, which were followed on, freshly calved cows and the cows in early lactation, and 12 randomly selected cows in the high stage of lactation. Blood samples were taken by puncture of the tail vein (vena caudalis) and then centrifuged at 3000 rpm/10 min. In the obtained serum there were determined following parameters: glucose, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, alkaline phosphatase, gamma glutamyl transferase, urea, total protein, BEFA, beta-hydroxybutyric acid, albumin, iron, cholesterol, HDL, LDL, triglycerides, calcium and phosphorus. Except of biochemical parameters, respiratory rate, temperature and score of BSC were measured. The conducted analysis revealed that the cows in the dry period had a satisfactory stage of energy, protein and mineral balance, while cows in freshly calved stage, some cows, had unsatisfactory state of energy balance, proteins and minerals. In early lactation stage trend of negative energy balance continues, concentration of albumin and protein is low, and mineral status is unsatisfying, while the cows in the top of lactation have better energy and protein supply than at the beginning of lactation. High concentration of urea and phosphorus deficency indicates that the protein is in excess in regards of energy, so we should take a serious step in correcting a diet.

Thesis performed at: Faculty of Agriculture in Osijek
Mentor: Doc.dr.sc. Mislav Đidara

Number of pages: 46
Number of figures:13/4
Number of tables: 6
Number of references: 37
Number of appendices: 0
Original in: Croatian

Key words: dairy cows, metabolic profile, biochemical parameters, diet.

Thesis defende on date:

Reviewers:

1. Prof.dr.sc. Marcela Šperanda, president

2. Doc.dr.sc. Mislav Đidara, leader

3. Prof.dr.sc. Pero Mijić, member

Thesis deposited at: Library, Faculty of Agriculture in Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Kralja Petra Svačića 1d.