Procjena utjecaja unosa energije na uspostavu spolnog ciklusa kod visokomliječnih krava nakon telenja

Vrtarić, Matija

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:262582

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

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



Repository / Repozitorij:

Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb







SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

PROCJENA UTJECAJA UNOSA ENERGIJE NA USPOSTAVU SPOLNOG CIKLUSA KOD VISOKOMLIJEČNIH KRAVA NAKON TELJENJA

DIPLOMSKI RAD

Matija Vrtarić

Zagreb, veljača 2019.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

Diplomski studij:
Proizvodnja i prerada mlijeka

PROCJENA UTJECAJA UNOSA ENERGIJE NA USPOSTAVU SPOLNOG CIKLUSA KOD VISOKOMLIJEČNIH KRAVA NAKON TELJENJA

DIPLOMSKI RAD

Matija Vrtarić

Mentor: Prof. dr. sc. Krešimir Salajpal

Zagreb, veljača 2019.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA STUDENTA

O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Matija Vrtarić**, JMBAG 0012250577, rođen/a dana 05.07.1992. u Čakovec, izjavljujem da sam samostalno izradila/izradio diplomski rad pod naslovom:

PROCJENA UTJECAJA UNOSA ENERGIJE NA USPOSTAVU SPOLNOG CIKLUSA KOD VISOKOMLIJEČNIH KRAVA NAKON TELJENJA

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica/jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____ _____

Potpis studenta

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studenta **Matija Vrtarić**, JMBAG 0012250577, naslova

PROCJENA UTJECAJA UNOSA ENERGIJE NA USPOSTAVU SPOLNOG CIKLUSA KOD VISOKOMLIJEČNIH KRAVA NAKON TELJENJA

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____ , dana _____ .

Povjerenstvo:			potpisi:
1.	Prof. dr. sc. Krešimir Salajpal	mentor	_____
2.	Prof. dr. sc. Darko Grbeša	član	_____
3.	Izv. prof. dr. sc. Antun Kostelić	član	_____

SAŽETAK

Uspostavljanje spolnog ciklusa kod visokomliječnih krava nakon teljenja je veliki problem na farmama koje imaju intenzivnu proizvodnju mlijeka. Iako visoka proizvodnja sama po sebi donosi puno problema oni se još povećavaju s lošim menedžmentom kao što je nedovoljno kvalitetna hrana i nepravilno izbalansiran obrok za visokomliječna goveda pa dolazi do metaboličkih i reproduktivnih problema tijekom laktacije.

U radu je napravljena analiza razine opskrbljenosti goveda s energijom i njen utjecaj na uspostavu spolnog ciklusa nakon teljenja i reproduktivne pokazatelje kod visokomliječnih krava na farmi mliječnih krava „V.v. Farma“ na području Međimurske županije temeljem sadržaja proteina i uree u mlijeku.

Na temelju odnosa mliječne masti i bjelančevina te sadržaja bjelančevina i uree u mlijeku može se zaključiti da 17,5% uzoraka mlijeka potječe od krava nedovoljno opskrbljenih energijom. Razdoblje rane laktacije (prvih 60 dana) je najosjetljivije razdoblje s obzirom na dostatnu opskrbu energijom i proteinima kod krava na što ukazuje činjenica da 45% uzoraka mlijeka analiziranih u ovom razdoblju ukazuje na deficit unosa energije, a u 16,5% uzoraka utvrđen je IMB >1,5 što sugerira opsežnu mobilizaciju masti iz tjelesnih rezervi i pojavu metaboličkih poremećaja. Uspostava spolnog ciklusa izražena kao razdoblje do prvog osjemenjivanja u većine krava bila je unutar 90 dana nakon teljenja (74%) dok u svega 9% krava to razdoblje je bilo dulje od 120 dana. Unatoč tome u čak 32% krava gravidnost je nastupila iza 120. dana laktacije što ukazuje na izostanak ovulacije i/ili postojanja nepovoljnih uvjeta za preživljavanje embrija (rana embrionalna smrtnost). Povezanost između pojedinih sastojaka mlijeka i reproduktivnih pokazatelja nije utvrđena.

Ključne riječi: mliječne krave, negativni energetski balans, bjelančevine, urea, ketoza

ABSTRACT

Establishing a ovarian cycle in high-yielding dairy cows after calving is a major problem for farms that have intensive milk production. Although high production itself brings a lot of problems, they are still growing with poor management such as inadequate quality food and improperly balanced meal for high-production cows, and therefore metabolic and reproductive problems occur during lactation.

The paper analyzes the energy supply level and its impact on the establishment of ovarian cycle after calving and reproductive indexes in high-production dairy cows using the urea and protein content in milk. Investigation was caaried out on dairy cows farm "V.v. Farma"in the area of Međimurje County.

Based on the ratio of milk fat and protein as well as urea content in milk samples, it can be concluded that 17.5% of milk samples come from cows that are not sufficiently supplied with energy. The period of early lactation (the first 60 days) is the most sensitive period in view of the sufficient supply of energy and proteins in cows. 45% of the milk samples analyzed in this period indicate a deficit of energy intake and 16.5% of the samples determined IMB> 1.5 suggesting extensive fat mobilization from body reserves and the occurrence of metabolic disorders. The establishment of the ovarian cycle, expressed as the period until the first mating, was within 90 days after calving (74%), while in only 9% of cows this period was more than 120 days. Nevertheless, even 32% of cow gravity appeared after the 120th day of lactation, indicating the absence of ovulation and / or the existence of unfavorable conditions for the survival of embryos (early embryonic mortality). The association between milk parameters and reproductive indicators was not detected.

Key words: dairy cows, negative energy balance (NEB), milk protein, milk urea, ketosis

SADRŽAJ

1. UVOD 1
2. PREGLED LITERATURE 2
2.1. Laktacija i negativna energetska bilanca 2
2.2. Metaboličke promjene u laktaciji 5
2.3. Metabolizam lipida 6
2.4. Metabolizam ugljikohidrata 7
2.5. Karakteristike prijelaznog razdoblja u mliječnih krava 8
2.6. Biokemijski pokazatelji energetskog sustava krava 9
2.7. Rizični faktori koji dovode do NEB i ketoze 10
2.8. Ketoza 11
2.9. Reproduktivni sustav u krava 13
2.10. Spolni ciklus u krava 15
2.10.1. Spolno dozrijevanje 15
2.10.2. Spolni ciklus krave 16
2.11. Aktivnost osi-hipotalamus-hipofiza-spolne žlijezde 17
2.12. Utjecaj „NEB“ na reproduktivne pokazatelje 17
2.13. Procjena opskrbe energijom i bjelančevinama temeljem sadržaja pojedinih sastojaka mlijeka 18
2.14. Povezanost nedostatka energije i proteina u mlijeku s reproduktivnim poremećajima 23
2.14.1. Utjecaj nedostatka energije i proteina na plodnost 23
2.14.2. Utjecaj nedostatka energije i proteina na ravnotežu hormona 24
2.14.3. Utjecaj nedostatka energije i proteina na koncepciju 24
2.14.4. Utjecaj nedostatka energije i proteina na razvoj embrija 25
3. CILJ ISTRAŽIVANJA 26
4. MATERIJALI I METODE 27
5. REZULTATI I RASPRAVA 28
6. ZAKLJUČCI 43
7. LITERATURA: 44

2. UVOD

Ubrzani razvoj poljoprivrede i napredak u selekciji na visoku mliječnost rezultirao je povećanjem rizika od pojave metaboličkih poremećaja kod krava. Visoka proizvodnja mlijeka predstavlja napor za organizam krave. Najveća opterećenja trpe organi koji su uključeni u promet tvari, energije i sintezu mlijeka, tj. jetra, mliječna žlijezda i reproduktivni sustav. Laktacija kao postpartalno stanje, organizam stavlja u stanje velikih promjena, velikih potreba za hranjivim tvarima prilikom čega zbog nemogućnosti podmirenja nastalih potreba dolazi do negativne energetske bilance (NEB). Kod NEB dolazi do smanjenja proizvodnje mlijeka, javlja se postporođajna neplodnost te dolazi do metaboličkih bolesti kao što je ketoza. Hranidba kao najvažniji uzrok NEB-a čini više od polovicu svih poremećaja u visoko mliječnih krava uz ostale rizične faktore kao što su smještaj životinja, pristup vodi, dob, pasmina i njega životinja. Reproduktivni proces u krava podrazumijeva niz fizioloških događanja koje mogu biti pod utjecajem velikog broja čimbenika koji utječu na plodnost. Dolazi do produživanja servis perioda i perioda između dva teljenja prilikom čega dolazi do smanjenja ekonomske konkurentnosti gospodarstva. Da bi se ostvarila konkurentnost gospodarstva, visoka proizvodnja mlijeka i zadovoljavajući broj teljenja tijekom proizvodno-reproduktivnog ciklusa, potrebno je da period između dva teljenja ne bude duži od 380 dana što znači da se tijekom svake godine dobije tele i da plotkinja mora ostati bređa najkasnije u 12. tjednu laktacije. Uz metaboličke i reproduktivne poremećaje dolazi i do hormonalnih poremećaja prilikom čega jajnici mogu smanjiti osjetljivost na leutenizirajući hormon (LH) koji je zadužen za ovulaciju zrelog folikula u jajniku iz kojeg se oslobađa zrela jajna stanica. Folikul razvijen u uvjetima hormonalnih poremećaja vjerojatno će postati ne-ovulacijski i doći će do kašnjenja ciklusa. Da bi izbjegli većinu metaboličkih i hormonalnih poremećaja izazvanih NEB-om koriste se podaci analiza mlijeka u kojem se određivanjem sadržaja mliječne masti, proteina, laktoze i uree procjenjuje opskrbljenost krava energijom i proteinima.

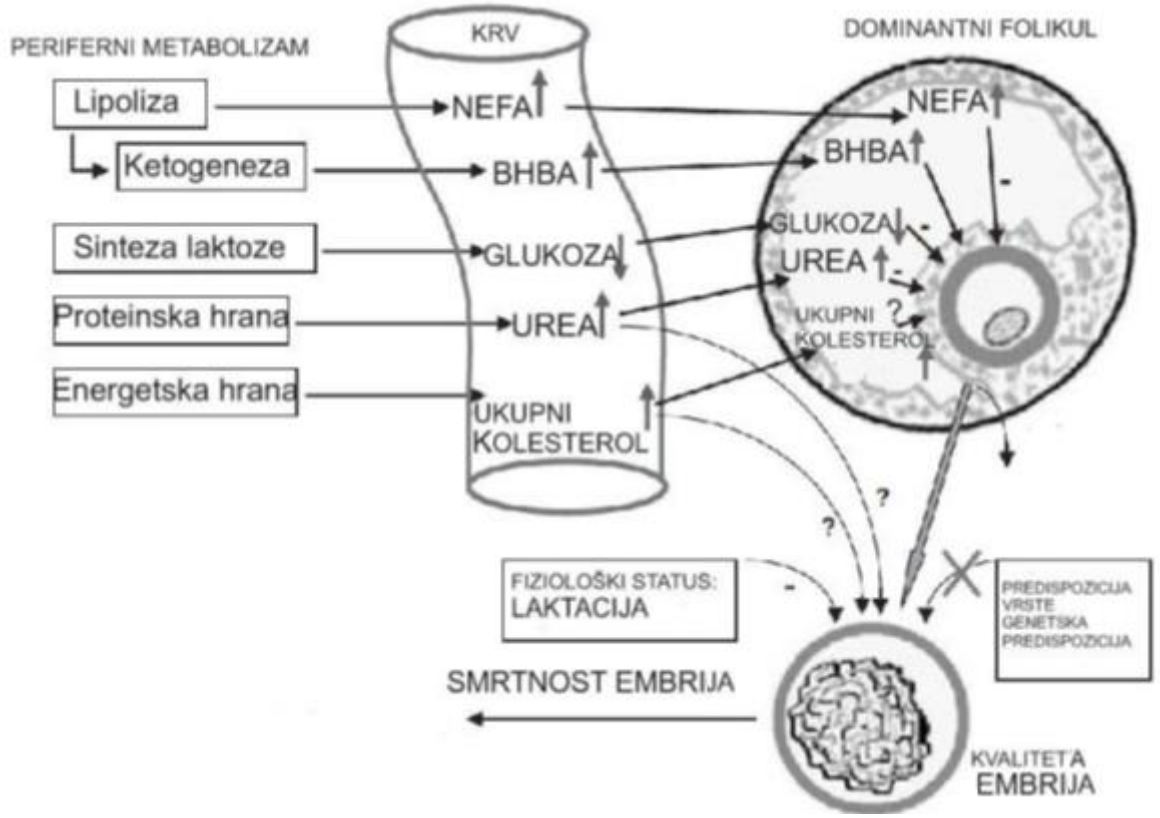
3. PREGLED LITERATURE

1.1. Laktacija i negativna energetska bilanca

Energetska ravnoteža je razlika između unosa energije i korištenja energije za održavanje i proizvodnju (mlijeko, meso, reprodukcija). Često u razdoblju rane laktacije visokoproizvodne krave ulaze u razdoblje kada je dostupnost energije iz hrane ograničena što može utjecati na pad mliječnosti ali i smanjenje reproduktivnih funkcija. Nadalje, navedeno stanje javlja se i u uvjetima izloženosti toplotnom stresu ili pak pri prelasku na ishranu TMR-om ili pašom, u razdobljima slabe kvalitete sirovina. Krave u ranoj laktaciji obično ne mogu konzumirati dovoljno energije kako bi se zadovoljile energetske potrebe za održavanje organizma i izlučivanje mlijeka, te posljedično tome ulaze u negativnu energetsku bilancu što može dovesti do ozbiljnih metaboličkih i reproduktivnih poremećaja. Kako bi izbjegli ulazak krava u negativnu energetsku bilancu dodaju se koncentrirana energetska krmiva. Pretjeranim dodavanjem energetskih krmiva često dolazi do pojave acidoza (Lance i sur., 2006). Zbog nedovoljnog unosa energije krava koristi masne rezerve da bi podmirila energetske potrebe i dolazi do pada kondicije. Unosom dovoljnih količina energijom bogatog obroka smanjuje se negativna energetska bilanca i gubitak tjelesne kondicije, što značajno pridonosi poželjnom zdravstvenom i rasplodnom stanju krave (Pejaković, 2001).

Negativna bilanca energije (NEB) u početku laktacije je česti uzrok postporođajne neplodnosti kod visokomliječnih krava. Utvrđeno je da promjena koncentracije IGF-I u cirkulaciji, koje vrlo često nastaju kao posljedica neadekvatne ishrane, mogu dovesti do poremećaja u funkciji reproduktivnih organa. Utvrđivanjem koncentracije tog hormona u serumu možemo procijeniti u kakvom je energetskom balansu životinja i predvidjeti kakve su njene reproduktivne mogućnosti. Negativna bilanca energije može uzrokovati potpuni izostanak ovulacije ili dovesti do smanjenog broja folikula. Utvrđena je povezanost između koncentracije neesterificiranih masnih kiselina (NEFA) u krvi i preživljavanja oocite što dovodi do smanjenje plodnosti visokomliječnih krava. Negativna bilanca je povezana i s visokom koncentracijom uree zbog pojačanog metabolizma aminokiselina potrebnih za glukoneogenezu ili zbog viška proteina u hrani. Povećanje koncentracije uree u folikularnoj tekućini djeluje toksično na razvoj oocita. Povišen nivo ukopnog kolesterola u cirkulaciji također može oštetiti razvoj velikih folikula (Sladojević, 2012).

Na slici 1 prikazani su mogući mehanizmi kojima može biti narušena kvaliteta embrija tijekom NEB kod visokomliječnih krava.



Slika 1. Prikazani su mogući mehanizmi utjecaja NEB na plodnost kod visokomliječnih krava

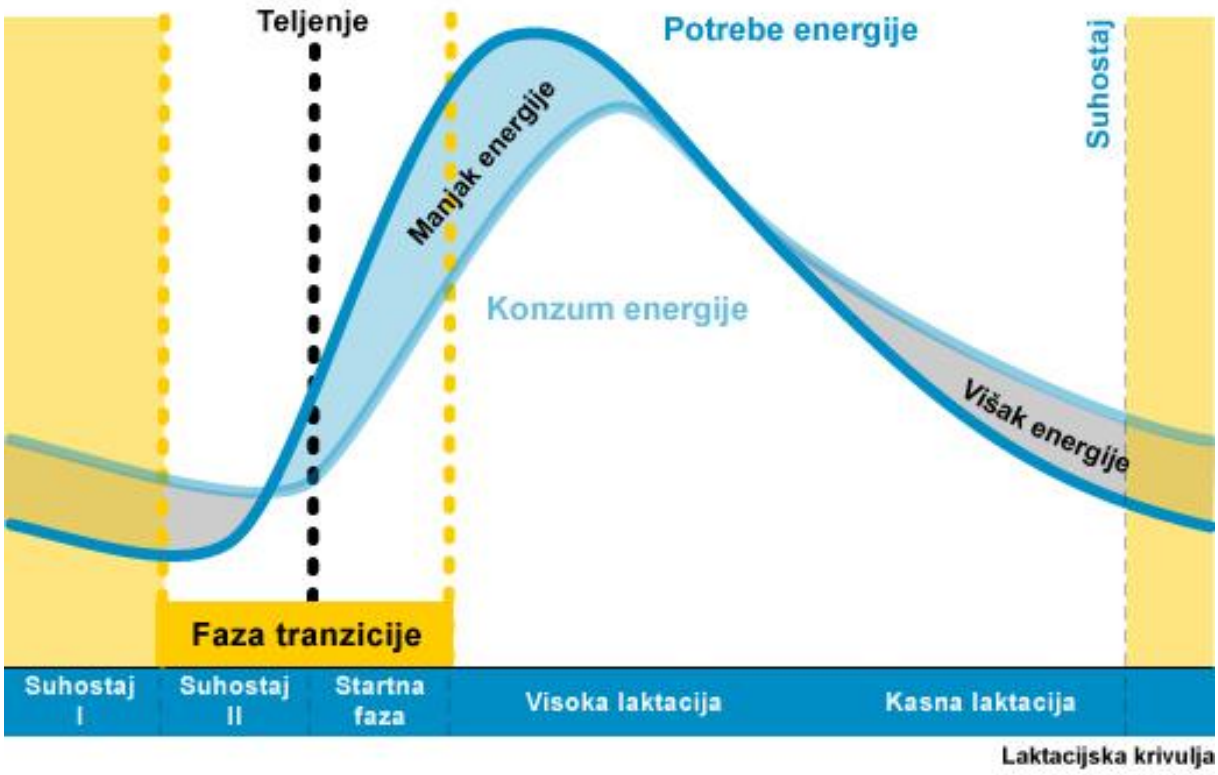
Izvor:
https://www.researchgate.net/publication/221972519_The_consequences_of_metabolic_changes_in_high-yielding_dairy_cows_on_oocyte_and_embryo_quality

Generalno negativna energetska bilanca koja karakterizira ranu laktaciju je praćena sniženom koncentracijom glukoze i inzulina u krvi, a povećanom koncentracijom betahidroksi maslačne kiseline (BHBA) i neesterificiranih masnih kiselina (NEFA) u krvi, što je veoma česta pojava kod krava u ranoj fazi laktacije. Zbog negativne bilance energije, deponirane tjelesne masti se mobiliziraju i utječu na koncentraciju leptina, tako da njegova koncentracija u krvi može biti pokazatelj negativne energetske bilance. Također se mijenja i koncentracija drugih hormona za vrijeme NEB. To su u prvom redu hormoni štitne žlijezde čija koncentracija značajno opada u ranoj fazi laktacije, slično kao koncentracija inzulinu-sličnog faktora rasta (IGF-I). Ove promjene se u značajnoj mjeri odražavaju na sve mehanizme koji su odgovorni

za prilagođavanja organizma na NEB, mliječne žlijezde i reproduktivnih organa (Sladojević, 2012).

Laktacija

Laktacija je proces sinteze i izlučivanja mlijeka, javlja se par dana prije poroda a povezana je hormonalnim promjenama koje se događaju u organizmu sisavaca. Pri tome dolazi do pada koncentracije progesterona, a raste razina prolaktina. Uloga sinteze i izlučivanja mlijeka je prehrana mladunčadi koje u prvim mjesecima ovisi o mlijeku (Filipović sur., 2007). U krava dobre plodnosti laktacija traje 305 dana. Servis period kraći od 80 dana skraćuje, a dulji period od 90 dana produžuje laktaciju (Domaćinović i sur., 2010). Vrhunac proizvodnje mlijeka nastupa prije maksimalnog unosa hrane. Zbog toga ako rezerve u organizmu nisu dovoljne dolazi do velike negativne energetske bilance koja dovodi do znatnog gubitka tjelesne mase te posljedično metaboličkih i reproduktivnih bolesti u ranoj laktaciji. Vrhunac laktacije se javlja u drugom mjesecu laktacije, a maksimalan unos hrane između 2 i 3 mjeseca laktacije (Mašek i sur., 2005). Maksimalan unos energije i potrebnu energiju za proizvodnju mlijeka prikazuje nam laktacijska krivulja.



Slika 2. Laktacijska krivulja

Izvor: https://www.schaumann.hr/cps/schaumann-hr/ds_img/hrv/Darst_520px_pp_transitphase_hr_110822.jpg

Porast količine izlučenog mlijeka tijekom laktacije posljedica je proliferacije sekretornih stanica mliječnih alveola i njihove povećane aktivnosti. Nakon dostizanja vrha laktacije slijedi pad proizvodnje mlijeka, kao rezultat smanjenja broja sekretornih stanica i njihove aktivnosti. Zbog naglog povećanja potreba za proizvodnju mlijeka prilagodba organizma mora biti brza u protivnom će doći do metaboličkih poremećaja (Filipović i sur., 2007). Laktacijska krivulja daje proizvođaču informacije dali su krave u vrhuncu laktacije u mogućnosti konzumirati dostatne količine hrane. Krave koje imaju ujednačeniju laktacijsku krivulju manje su podložne energetskom deficitu i metaboličkim bolestima (Filipović i sur., 2007). Sinteza mlijeka uključuje sintezu mliječne masti, laktoze i bjelančevine u sekretornim stanicama mliječne žlijezde. Sinteza se vrši iz tvari dostupnih iz krvi. U sintezi mliječne masti kao prekursor koriste se masne kiseline koje potječu iz tri izvora: octena kiselina i beta hidroksimaslačna kiselina, masne kiseline dobivene razgradnjom triglicerida iz hilomikrona i lipoproteina vrlo male gustoće i slobodne masne kiseline iz krvne plazme (Filipović i sur., 2007).

1.2. Metaboličke promjene u laktaciji

Tijekom rane laktacije zahtjevi na energiji potrebnoj za proizvodnju mlijeka i održavanje kondiciju krave premašuju raspoloživu energiju iz unesene hrane. Zbog naglog povećanja proizvodnje mlijeka u slučaju da prilagodba metabolizma nije dovoljno brza dolazi do metaboličkih poremećaja. Mlijeko u prosijeku sadrži 3,9% masti, 3,2% bjelančevina, 4,6% laktoze, 0,7% pepela (Jenness, 1986). Na temelju tih podataka vidimo da krava dnevno mlijekom izluči 1,6 kg masti, 1,3 kg bjelančevina, 1,8 kg laktoze i 0,28 kg minerala. Zbog tako velike količine dnevno iznesenih tvari iz organizma krave vrlo često dolazi do zamašćenja jetre, tj. pojave ketoze. Prilikom izvlačenja velike količine glukoze iz krvi u mliječnu žlijezdu smanjuje se već ionako niska količina glukoze u krvi. Posljedično tome dolazi do pada razine inzulina i porasta razine glukagona u krvi, s povećanim obimom lipolize i beta oksidacije nastalih masnih kiselina (Vernon, 2005).

Negativna energetska bilanca (NEB) pojavljuje se jer se energetski zahtjevi za proizvodnju mlijeka ne mogu zadovoljiti samo uzimanjem hrane. Iako je NEB fiziološki normalan proces, prekomjerni NEB odražava lošu prilagodbu. Poznato je da NEB u pretporođajnom razdoblju

povećava rizik za postporođajne bolesti kao što je zadržavanje posteljice, mliječna groznica, upala mliječne žlijezde, klinička ketoza. Težina i trajanje NEB-a odražavaju se povećanjem cirkulirajućih neesterificiranih masnih kiselina i beta-hidroksibutirata te stupnjem smanjena koncentracija glukoze i inzulina. Kod preživača ugljikohidrati se fermentiraju u kratkolančane masne kiseline pomoću mikroorganizama u buragu, pa se stoga većina glukoze mora sintetizirati u jetri. Budući da je laktoza glavna komponenta u mlijeku, glukoneogeneza je usko povezana s laktogenezom jer će količina raspoložive glukoze odrediti količinu proizvedenog mlijeka. Nakon poroda dolazi do smanjenja proizvodnje inzulina u gušterači, što dovodi do smanjenja iskorištavanja glukoze kod organa osjetljivih na inzulin. Kao odgovor na smanjenje koncentracije glukoze u krvi povećava se lipoliza i oslobađanje neesterificiranih masnih kiselina (NEFA). Jetra pretvara 15-20% NEFA u ketonska tijela, triacilglicerole i ugrađuje ih u lipoproteinske čestice niske gustoće (HDL). Ketonska tijela nastala u jetri služe kao alternativni izvor energije za neka tkiva kao što su mozak i srce. Budući da je sposobnost preživača da eliminiraju triacilglicerole iz jetre u obliku lipoproteina vrlo niske gustoće (HDL) ograničena, ova reesterifikacija rezultira nakupljanjem masti u stanicama jetre, tj. pojavu lipozu jetre. Prekomjerno nakupljanje masti u jetri narušava njenu normalnu funkciju što može dovesti do hipoketonemije (Fiore i sur., 2017).

1.3. Metabolizam lipida

Lipidi su skupina u koju su obuhvaćene masti i spojevi slični mastima. Glavni kriterij da neki spoj ubrojimo u lipide jest svojstvo topljivosti. Lipidi su netopljivi u vodi, a u vodenome mediju stvaraju koloidne ili micelarne otopine, a topljivi su u organskim otapalima kao što su benzen, eter, kloroform. Lipide svrstavamo u 4 grupe; prva i druga grupa su jednostavni lipidi, a treća i četvrta su kompleksni lipidi. Grupu lipida izgrađuju različiti spojevi, razlog tome je da lipidi u metabolizmu pokazuju veliku sličnost, svi se izgrađuju iz aktivirane octene kiseline. Oni su važni sastojci bioloških membrana, te određuju njihova svojstva. Mnogi lipidi kao svoju glavnu komponentu sadrže dugolančane masne kiseline, a u metabolizmu se često reakcijama mogu pretvarati jedni u druge (Karlson, 1993).

Masti nam omogućuju učinkovitu pohranu energije za kasniju upotrebu. Masna kiselina sadrži dugi ugljikovodični lanac s karboksilnom skupinom na kraju. Postoje četiri glavne fiziološke uloge masnih kiselina. One služe kao izvor energije za stanice. Nadalje, služe kao oblik pohrane energije (vrlo koncentrirana skladišta energije) u obliku estera masnih kiselina s

glicerolom. Za vrijeme blagih aktivnosti ili odmora, masne kiseline su glavni izvor energije za organizam. Masne kiseline izgrađuju fosfolipide i glikolipide, koji su važni sastojci bioloških membrana. Također, mnogi proteini su modificirani kovalentnim vezanjem masnih kiselina, koje ih upućuje na odredišta u membrani. Lipidi kao derivati masnih kiselina služe kao hormoni i unutarstanični glasnici (Stryer, 2013).

Razgradnja i sinteza masnih kiselina sastoje se od četiri koraka. Razgradnja je oksidacijski proces koji masne kiseline pretvara u niz aktiviranih acetilnih jedinica koje se mogu dalje razgraditi u citratnom ciklusu. Aktivirana se masna kiselina oksidira kako bi se uvela dvostruka veza, a ta se veza hidratizira da bi se uvela hidroksilna skupina, alkohol se oksidira u keton, konačno tu ketokiselinu kida koenzim A u acetil_CoA i masnu kiselinu kraću za dva ugljikova atoma. Ako je masna kiselina zasićena i ima parni broj C-atoma, ovaj se proces jednostavno ponavlja sve dok masna kiselina ne bude potpuno prevedena u acetil-CoA (Stryer, 2013).

1.4. Metabolizam ugljikohidrata

Ugljikohidrati čine najveći dio organskih tvari na zemlji. Ugljikohidrati od najveće važnosti su heksoze kao što su saharoza, laktoza, galaktoza (dobivena iz fermentiranih proizvoda), maltoza (dobivena hidrolizom škroba) i pentoze kao šo su ksiloza i arabinoza (iz voća). Razgradnja ugljikohidrata počinje u ustima, a kroz crijevo se probavi 60% škroba. Crijevni epitelni stanični enzimi razgrađuju 6C ugljikohidrate. Ti enzimi su laktaza za razgradnju laktoze do glukoze i galaktoze, saharaze za razgradnju saharoze do njezinih sastavnih komponenti, glukoze i fruktoze, i maltaza za razgradnju maltoze do dvije molekule glukoze. 5C-ugljikohidrati, kao što su ksiluloza, arabinoza, riboza i ribuloza, lako difundiraju u crijevne stanice i ne trebaju njihovu degradaciju. Apsorpcija ugljikohidrata-6C iz epitela crijeva događa se na dva načina: pasivnim i aktivnim transportnim sustavom. U pasivnom difuzijskom obliku, fosforilacija ugljikohidrata (glukoze ili galaktoze) u stanicama crijeva dovodi do njihovog olakšanog prijenosa u cirkulaciju. Glukoza-6-fosfat i galaktoza-6-fosfat se zatim defosforiliraju i ulaze u jetru. U aktivnom difuzijskom obliku, ugljikohidrati koji koriste mobilni prijenosni protein spojen s natrij-kalij pumpom i nasuprot gradijenta zajedno sa Na+ ionom ulaze u eritrocite. Galaktoza i fruktoza se pretvaraju u glukozu u jetri. Glukoza se koristi u različitim metaboličkim putevima, a služi kao izvor energije za periferna tkiva i održavanje tjelesne

temperature, za skladištenje energije u jetri i skeletnim mišićima u obliku glikogena te pohranu viška energije u masnom tkivu u obliku triglicerida (Dashty, 2013).

1.5. Karakteristike prijelaznog razdoblja u mliječnih krava

Početak laktacije je prijelazno razdoblje u kojem dolazi do naglog povećanja potreba za tvarima neophodnim za sintezu mlijeka, kao i prilagodbe metaboličkih procesa i ostalih tjelesnih funkcija. Zbog naglog porasta proizvodnje mlijeka sama prilagodba mora biti brza zbog čega dolazi do potrebe unosa velikih količina hranjivih tvari, a u slučaju nedovoljnog unosa hranjiva dolazi do metaboličkih poremećaja. Laktacija mliječnih krava se održava iznimno dugom 305 do 500 dana pri čemu se zadnji mjeseci gravidnosti podudaraju s visokom proizvodnjom što dodatno povećava metabolički napor (Filipović i sur., 2007).

Kod visokomliječnih krava unos hrane i energetska bilanca počinju se smanjivati prepartum prilikom čega dolazi do mobilizacije tjelesnih masti i porast slobodnih masnih kiselina (NEFA) u krvi. Početak laktacije nakon teljenja povezan je s produljenim razdobljem negativne energetske bilance tijekom kojeg energetski unos kasni za energetskim zahtjevima ubrzane proizvodnje mlijeka (Butler, 2012).

Na znatnu učestalost poremećaja energetskog metabolizma u krava utječe i činjenica da su preživači u održavanju glikemije za razliku od monogastričnih životinja, u najvećoj mjeri ovisni o glukogenezi. Procesi fermentacije u buragu prevode ugljikohidrate unesene hranom u niže masne kiseline dok se vrlo mali dio glukoze resorbira kroz sluznice predželuca i crijeva. Zbog negativne energetske bilance u početku laktacije i metaboličkih poremećaja dolazi do učestalih problema s proizvodnošću i reproduktivnom sposobnošću životinja (Filipović i sur., 2007).

Tijekom perioda kasne laktacije, a naročito tijekom perioda zasušenja krave unose veću količinu energije nego što je potrebno za uzdržne potrebe i potrebe ploda te višak energije deponiraju u masnom tkivu. U ranom postpartalnom periodu, homeoretski mehanizmi nadvladavaju homeostatske i proizvodnja mlijeka se održava najvećim djelom na račun tjelesnih rezervi životinje prilikom čega vrlo često dolazi do poremećaja zdravlja životinja (Savić, 2010).

1.6. Biokemijski pokazatelji energetskog sustava krava

U praksi najdostupniji pokazatelj energetskog statusa u krava jest orijentaciono određivanje razine ketonski tijela u mokraći i mlijeku. Međutim, s obzirom na činjenicu da je sama pojava ketonurije odraz uznapredovale ketonemije, ovaj pokazatelj slabo je koristan u smislu pravovremene procjene zdravstvenog statusa životinje. Dokazivanje ketonskih tijela u mokraći pokazalo se vrlo nepouzdanim zbog pojave lažno pozitivnih reakcija. Pouzdanije se dokazalo dokazivanje ketonskih tijela u mlijeku. Preventivni pristup metaboličkim poremećajima je određivanje biokemijskih pokazatelja energetskog statusa u krvi u razdoblju oko poroda. Kao najpouzdaniji pokazatelji negativne energetike ravnoteže mogu se koristiti razine NEFA i BHB (beta-hidroksibutirata) u krvnoj plazmi (Filipović i sur., 2007).

Vranković i sur. (2017) navode da su sadržaj mliječne masti i proteina u mlijeku povezani s metaboličkim stanjem krave stoga ova dva parametra preporučuju za određivanje negativne energetske bilance. Poznato je da tijekom tranzicije korištenje masnih rezervi utječe na sastav mlijeka tj. postotak mliječnu mast.

Lomander (2012) navodi da se za procjenu NEB-a može koristiti i koncentracija glukoze ali je zbog ograničene varijabilnost čini manje idealnom za upotrebu kao indikator. Koncentracija glukoze povećava se vanjskim čimbenicima kao što su hranjenje i stres. Koncentracija inzulina naglo opada prilikom teljenja i ostaje niska u ranoj laktaciji tijekom razdoblja NEB-a dok se kod krava u metaboličkoj ravnoteži inzulin se povećava kao odgovor na povećane koncentracije glukoze kako bi se održala homeostaza glukoze.

Preventivni pristup metaboličkim poremećajima je pravovremena korekcija hranidbe na temelju biokemijski pokazatelja. Potpunija slika o energetskom statusu može se dobiti određivanjem razine glukoze, triglicerida, kolesterola te profila lipoproteina krvnog seruma uz određivanje NEFA i BHB u krvnoj plazmi. NEFA nastaju kao proizvod mobilizacije zaliha triglicerida u masnom tkivu. Prenose se krvlju uglavnom vezane na albumine. Porastom NEFA u krvnoj plazmi zbog ograničenog kapaciteta vezanja na albumine porast će i udio NEFA nevezanih na albumine koji imaju toksične učinke na membranu stanica. Porast NEFA odraz je negativnog energetskog statusa (Filipović i sur., 2007.).

Filipović i sur. (2007) navode da u procijeni energetskog statusa krava korisne informacije mogu pružiti kako razina NEFA, kao izvornog pokazatelja obima mobilizacije tjelesnih zaliha masti te razina ketonskih tijela, kao indikatora ketoze.

1.7. Rizični faktori koji dovode do NEB i ketoze

Jedan od faktora koji dovode do NEB-a i ketoze je kondicija krava iznad poželjne tj., zamašćena krava. Krave ulaze u suhostaj predebele, ocjena tjelesne kondicije im je iznad 3,75 i u pravilu imaju vrlo slab apetit nakon teljenja. Posljedica toga je ubrzano trošenje nakupljenih masnih zaliha i gubitak kondicije u ranoj laktaciji. Takve krave imaju često zdravstvene i reproduktivne probleme nakon teljenja: zaostajanje posteljice, mliječnu groznicu, zamašćenje jetre, ketozu, dislokaciju sirišta, mastitis, neaktivne jajnike, smanjenu proizvodnju mlijeka i slabu perzistenciju laktacije. Debele krave obično ranije dosežu vrh laktacije, manje jedu i naglo troše masne zalihe. Drastični gubitak tjelesne kondicije uzrokuje predugačko servisno razdoblje i laktacija se produžuje. Kod takvih krava kondicija se popravlja između 200 i 300 dana laktacije te se krave prate u suhostaju da ne dođe do ponovnog prekomjernog zamašćivanja tj. krave kakve uđu u suhostaj bi trebale imati istu kondiciju i u vrijeme teljenja. Kod krava sa slabijom kondicijom i nedovoljnim unosom energije hranom dolazi do prekomjernog mršavljenja i ne dostižu vrh laktacije. Da bi spriječili prekomjerno mršavljenje krave moraju dobivati ukusne i dobro izbalansirane obroke visokog sadržaja energije da bi se što veći dio energetskih potreba podmirio hranom. Time se negativna energetska bilanca i gubitak tjelesne kondicije smanjuju na prihvatljivu razinu, što značajno pridonosi poželjnom zdravstvenom i rasplodnom stanju krave (Pejaković, 2001).

Sladojević (2012) navodi da se u rizične faktore ubrajaju i parametri metaboličkog profila, posebno pokazatelji funkcionalnog stanja jetre, koncentracije hormona u krvnoj plazmi. Nekoliko tjedana prije teljenja ovi parametri mogu ukazivati na opasnost od patofizioloških poremećaja pa je moguće da se određenim mjerama ublaže posljedice NEB-a u prvoj fazi laktacije.

U rizične faktore možemo svrstati i brojne druge vanjske čimbenike. Svaki faktor koji ograničava kravu da konzumira dovoljno hrane tj., unosi dovoljno energije hranom dovodi do NEB-a. Mikroklimatski uvjeti utječu na zdravlje i proizvodnju, različiti su od staje do staje i ovise o okolišu i izvedenom objektu koji mora biti osvijetljen, prozračan te optimalne temperature. Ovisno o autoru ona varira između 5-25 ^{o}C (Havranek i Rupić, 2003). Toplinski stres utječe na unos hrane, reprodukciju te smanjuje apsorpciju hranjivih tvari što rezultira smanjenje energije i dovodi do NEB-a slično kao u ranoj laktaciji ali ne u tolikoj mjeri. Prilikom toplinskog stresa dolazi do hiperventilacije zbog smanjenja CO_2 u krvi pa bubrezi

izlučuju HCO3- (bikarbonat) kako bi izjednačili omjer HCO3- i CO_2. Time se smanjuje HCO3- koji se koristi preko sline za održavanje pH buraga pa dolazi do acidoza i slabijeg unosa krmiva i na kraju dolazi do NEB (Baumgard i Rhoads, 2007.). Isto tako i prenapučenost staje i premalo mjesta za napajanje dovode do smanjenog unosa krmiva te pojave spontane tj. gladne ketoze (Zobel, 2011).

1.8. Ketoza

Ketoza je postala najvažnija metabolička bolest mliječnih goveda, važnija od acidoze i mliječne groznice. U stadu je vrlo teško procijeniti stupanj ketoze. Proizvođači s malim stadima skloni su precjenjivanju značaja ketoze, a oni s velikim stadima najčešće umanjuju utjecaj i prisutnost ove bolesti (Zobel 2011.).

Ketoza se javlja u slučajevima kada unos energije ne odgovara trenutačnim potrebama životinje. Najčešće se javlja u razdoblju od nekoliko dana do šest tjedana nakon teljenja i to kod visokoproizvodnih životinja. Glavni uzrok nastanka je nemogućnost konzumacije dovoljno krmiva jer maksimalni unos krmiva kasni za maksimalnom proizvodnjom mlijeka. Pogodovni čimbenik je specifičan metabolizam preživača kojima je glavni izvor glukoze iz hrane propionska kiselina i u manjoj mjeri bjelančevine te dio ugljikohidrata koji se ne razgradi u buragu (Mašek i sur., 2005).

Zbog nedostatka glukoze masti se ne mogu pretvoriti u energiju, već nastaju tvari koje se zovu ketonska tijela, po čemu je i ketoza dobila ime. Ketoza može biti subklinička prilikom čega se ne zamjećuju vanjski znakovi bolesti. Kada se na životinji očituju znakovi poput gubitka apetita, mirisa acetona u izdahnutom zraku, smanjene aktivnosti buraga, mršavljenje i smanjenje mliječnosti, kažemo da je ketoza klinička (Domaćinović i sur., 2008).

Najbolji način liječenja je intravenozna primjena glukoze i dodavanje propilen glikola ili natrij propionata u obrok. Povoljan učinak ima i primjena niacina i vitamina B_{12}. Hranidba energetski bogatim krmivima uz dodatak propionske kiseline na kraju suhostaja može smanjiti mobilizaciju masnog tkiva i time spriječiti subklinički ketozu (Mašek i sur., 2005).

Ketoza se u krava javlja u tri osnovna tipa između kojih je teško utvrditi granicu budući da se često preklapaju.

Tip I – spontana ili gladna ketoza javlja se u razdoblju 3-6 tjedana po porodu, u to je vrijeme i najveći utrošak energije. Kod ovog tipa se ne primjećuju simptomi na kravama budući da se ove krave tele normalno te posve normalno započinju laktaciju. Takvim grlima je potrebna mala pomoć u obliku glicerola ili natrij-propionata kako bi se brzo oporavila i nastavila s normalnom proizvodnjom. Prevencija ovog tipa je povećanje energetskog dijela u obroku tijekom rane laktacije uz dodatak prekursora glukoze. Jedan od mogućih uzroka za pojavu ovakvog tipa ketoze je i prenapučenost budući da su svježe oteljene krave izuzetno osjetljive na vanjske utjecaje i stres pa dolazi do smanjenja konzumacije hrane. Kod korištenja TMR obroka ovaj je tip ketoze izuzetno rijedak, ali ako se pojavi znak je da su životinje hranjene dulje vrijeme velikom količinom hrane bogatom bjelančevinama (Zobel, 2011).

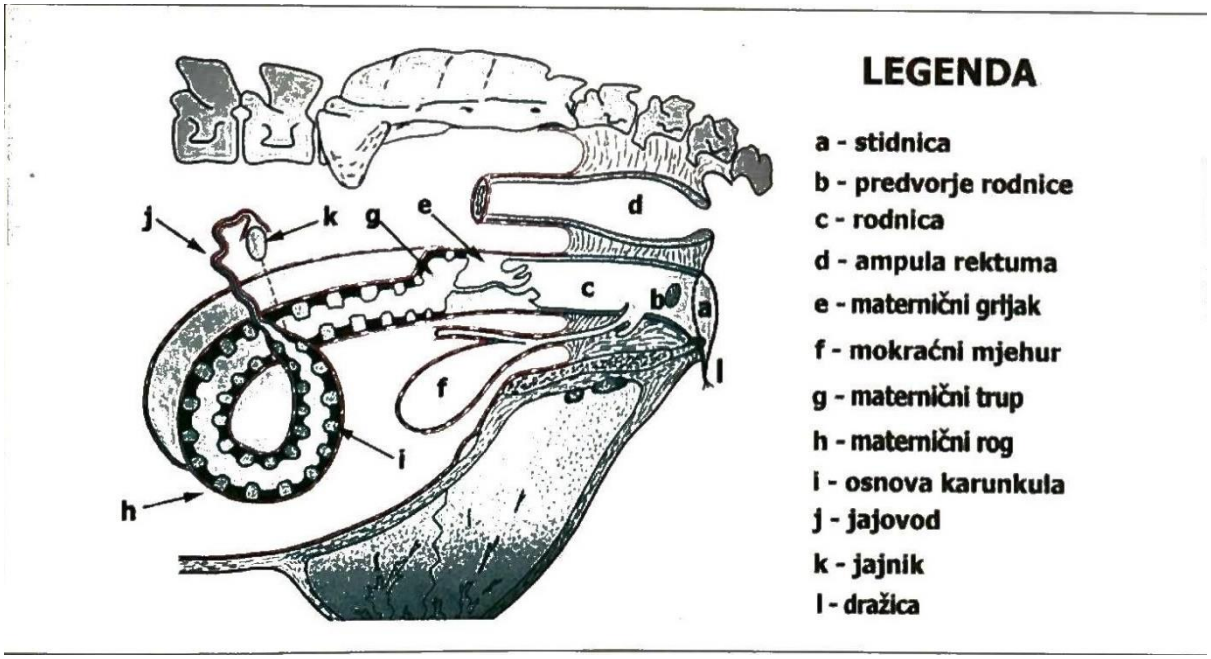
Tip II – sindrom debele krave je oblik ketoze koji zahvaća sve krave koje su prisiljene mobilizirati vlastite masne zalihe neposredno prije poroda pa dolazi do NEB-a. Debele životinje su sklonije pojavi ovog oblika ketoze jer su sklonije slabijem uzimanju hrane neposredno prije i poslije poroda. Faktori rizika za pojavu ovog tipa su premještanje prije poroda, prenapučenost rodilišta, često uvođenje novih grla u rodilište, nedovoljno hranidbenog prostora, previsoke temperature tijekom ljeta, slaba ventilacija. Kod ovog tipa javlja se sindrom masne jetre, koja je u pravilu zamašćena i prije poroda ali se manifestira neposredno po porodu unutar dva do ti tjedna. Debele krave brzo gube na tjelesnoj masi i postaju mršave uz smanjen apetit. Ovaj tip prate i otežano teljenje, zaostajanje posteljice i upala maternice te dolazi i do uginuća grla. Kod ovakve ketoze zahvaćena je i funkcija jetre, dolazi do razvoja intoksikacije pa čak i septikemije čime se omogućuje razvoj upala maternice, vimena i pluća. Prevencija ovog tipa ketoze svodi se na pravilnu hranidbu. Treba izbjegavati da se životinje udebljaju tijekom suhostaja, te omogućiti kvalitetnu krmu bogatu energijom kako ne bi pala konzumacija neposredno nakon poroda (Zobel, 2011).

Tip III – javlja se prekomjernim davanjem kisele silaže ili sjenaže. Sjenaža koja je pokošena mokra kao i ona siromašna vodotopivim ugljikohidratima pogoduje razvoju bakterija *Clostridium* koje fermentiraju ugljikohidrate u maslačnu umjesto mliječnu kiselinu. Kukuruzna silaža vrlo rijetko pogoduje rastu *Clostridium spp.* jer je najčešće bogata vodotopivim ugljikohidratima. U sjenaži najviše vodotopljivih ugljikohidrata ima u satima tijekom ranog poslijepodneva. Silaža koja je zahvaćena klostridijama lako se prepozna po užeglom mirisu ili po pokvarenom maslacu tj. truljenju bjelančevina. 50-100 grama unesene maslačne kiseline obrokom uzrokuje pojavu ketoze, a 200 grama pojavu teškog oblika ketoze. U ovakvim slučajevima jedino preostaje da se silaža i sjenaža neškodljivo zbrinu (Zobel, 2011).

Ketoza se još može podijeliti na primarnu i sekundarnu. Primarna nastaje zbog neuravnotežene prehrane i disbalansa energetske ravnoteže u organizmu. Dok sekundarna nastaje zbog drugih faktora koji onemogućavaju dostatan unos krmiva i opskrbu energijom kao što su dislokacija sirišta, zaostajanje posljedice, mastitis, bolesti papaka (Zobel, 2011).

1.9. Reproduktivni sustav u krava

Sistem ženskih reproduktivnih organa obuhvaća dva jajnika, dva jajovoda, maternica, rodnica, stidnica i dražica. Spolni organi povezani su širokim maternicnim ligamentima. Mliječna žlijezda ne pripada reproduktivnoj skupini ali je funkcija ove žlijezde povezana za reproduktivnom sustavom. Kod embrija starih 3-4 tjedana već se uočavaju promjene spolne diferencijacije. Kod ženskog embrija koji sadrži XX kromosom spolni organ se razvija iz Müller-ovog kanala, a muški spolni organi se razvijaju iz Wolff-ov kanala (Stančić, 2014).



Slika 3. Shematski prikaz spolnih organa krave i junice

Izvor: Makek Z., Samardžija M., Tomašković A., Dobranić T. (2007): Rasplođivanje krava I junica, Veterinarski fakultet Zagreb

Jajnici su primarni reproduktivni organi. Promjera su oko 2,54 cm. Nalaze se u membrani nalik na vrećicu i odgovorni su za izlučivanje hormona estrogena i progesterona i proizvodnju jajašca. Folikuli koji su se razvili na jajniku odgovorni su za lučenje estrogena.

Razina estrogena dostiže svoj maksimum tijekom tjeranja i slijedi iznenadni porast luteinizirajućeg hormona i oslobađanje jajašca i ovulacija (Shearer, 1992.).

Jajovodi su dugi oko 25 cm i leže između svakog jajnika i vrha susjednog maternicnog roga. Sa jajnikove strane jajovod je oblikovan u obliku lijevka i hvata jajnu stanicu dok se oslobađa iz jajnika tijekom ovulacije i pomiče ga na povećani gornji kraj jajovoda koji se zove ampula. Oplodnja se događa ovdje unutar 12 sati od ovulacije. Nakon oplodnje oplođeno jajašce putuje u maternicu u roku od 3 do 4 dana (Prange, 2007).

Maternica je kod krava pregrađena pa nije jednake veličine izvana i iznutra. Sastoji se od cerviksa, trupa i rogova. Na granici maternice i rodnice nalazi se cerviks koji je dug 7 cm, dobro ograničen, tvrdo elastičan poput hrskavice. Sredinom cerviksa ide cervikalni kanal koji sa šupljinom maternice komunicira kroz ostium uteri internum, a s rodničkom šupljinom preko ostium uteri externum. Trup maternice je kratak oko 5 cm i širine 9 com i sadrži septum. Ulazi u maternične rogove nalaze se gotovo ispred ostium uteri intenum. Rogovi maternice se prema jajovodu pomalo sužavaju i neprimjetno prelaze u jajovod dugi su oko 35 cm. Stijenka maternice junica tanja je do stijenka krava koja iznosi otprilike 11 mm. Maternica u prvotelki najčešće je smještena dijelom u zdjeličnoj a djelom u abdominalnoj šupljini. Kod starih krava često je cijela u abdominalnoj šupljini. Sluznica maternice je glatka i bez nabora, ali tvori karunkule, koje su u svakom rogu (Makek i sur., 2007).

Rodnica se nastavlja na maternicu i cerviks, leži vertikalno ispod rektuma, a dorzalno iznad mokraćnog mjehura. Rodnica krava je duga 12-28 cm, a stijenka rodnice debela 6-8 mm i ima tri sloja: vanjski sloj, srednji sloj i kutana sluznica rodnice (Makek i sur., 2007.).

Vulva je građena od malih i velikih usmina između kojih se nalazi uzdužni otvor. Velike usmine se spajaju dorzalno i ventralno. Velike usmine vulve su presvučene kožom, koja može biti pigmentirana, a obrasla je sitnim dlačicama (Stančić, 2014).

Vagina ima ulogu da fizički zatvara ulaz u unutrašnje spolne organe, na taj način, ne dozvoljava prolaz stranim tijelima tj., mikroorganizmima i nečistoćama, u unutrašnje spolne organe. Pod djelovanjem estrogena, u folikularnoj fazi ciklusa, koža stidnice je zacrvenjena, a njeno tkivo je otečeno (Stančić, 2014).

1.10. Spolni ciklus u krava

Prirodna dinamika spolnog ciklusa kod sisavaca predstavlja pojavu jednog ciklusa godišnje. Proces domestifikacije je omogućio da životinje imaju povoljne uvjete hranidbe i okoliša kroz cijelu godinu što produljuje period spolne aktivnosti. Kod nekih životinja kao što su goveda spolni se ciklus periodički javlja tijekom cijele godine. Razmnožavanje životinja je moguće samo tijekom estrusa kad na jajnicima dolazi do pucanja Grafovih folikula, a ženka pokazuje želju za parenjem što je vidljivo iz vanjskih znakova ponašanje životinje.

1.10.1. Spolno dozrijevanje

Kada razvoj organizma dostigne određenu veličinu dolazi do faze spolnog dozrijevanja i počinju se javljati ciklične promijene na jajnicima tj. spolni ciklus je praćen s morfološkim i fiziološkim promjenama jedinke. Jednom započeta spolna aktivnost ostaje aktivna sve do smrti jedinke ako ne dođe do promjena okoliša ili jedinke koji bi mogli utjecati na spolnu aktivnost. Krave su policiklične i imaju kontinuiranu izmjenu faza spolnog ciklusa koju mogu prekinuti samo gravidnost, laktacije i teži metabolički problemi. Junice spolno dozrijevaju sa 7 do 18 mjeseci prilikom čega dolazi do intenzivnog rasta spolnih organa. Novonastale promjene nastaju pod utjecajem rada jajnika koji imaju germinativnu i endokrinu funkciju. Luteinizirajući hormon (LH) odgovoran je za početak aktivnosti jajnika. Hipofiza mladih životinja sposobna je za sintezu dovoljne koncentracije LH za izazivanje ovulacije, ali nedostaje pozitivna povratna sprega estradiola pa nema ni porasta LH (Kočila, 2005). LH je glikoprotein kojeg sintetiziraju stanice prednjeg režnja hipofize pod utjecajem hormona iz hipotalamusa izlučuje se u krvotok. Ovulacijski val LH izaziva sazrijevanje jajne stanice u predovulacijskom folikulu i pokreće procese sinteze proteolitičkih enzima u stanicama folikula. Ovaj proces se naziva ovulacija (Stančić, 2014). Čimbenici koji utječu na početak spolnog dozrijevanja su: prehrana, godišnje doba, prisutnost bika, klima, pojavnost bolesti (Kočila, 2005).

1.10.2. Spolni ciklus krave

Spolni ciklus krave dijelimo u četiri faze:

Proestrus

Razdoblje proestrusa događa se 2 do 3 dana prije estrusa i karakteriziran je folikularnim rastom i lučenjem estrogena. Rastuća razina estrogena krvotokom dolazi do reproduktivnih organa što dovodi do oticanja cijelog trakta. Žlijezde cerviksa i vagine se stimuliraju i povećava se sekretorna aktivnost prilikom čega dolazi do pojave vaginalnog iscjetka sluzi (Shearer, 1992). Maternica se povećava na endometriju se javlja kongestija i edem, a njegove žlijezde pojačavaju sekretornu aktivnost (Kočila, 2005). U proestrusnom razdoblju krava zaskače druge krave ali nema refleks stajanja (Stančić, 2014).

Estrus

Na kraju proestrusa javlja se estrus. Traje 0,5 – 1 dan. To je razdoblje u kojem dolazi do želje za parenjem ovakvo ponašanje je rezultat djelovanja estrogena na središnji živčani sustav. U tom vremenu je krava vrlo nemirna, dolazi do smanjenja apetita i pada proizvodnje mlijeka. Povećava se opskrba reproduktivnog trakta krvlju i stimulacija žlijezda prilikom čega dolazi do sluzavog iscjetka iz vulve (Shearer, 1992). Dominantni folikul dostiže predovulatornu veličinu. FSH (folikulostimulirajući hormon) i estrogen dostižu maksimalnu koncentraciju i ovulacija se događa 10 do 12 sati poslije prestanka vanjskih znakova estrusa (Stančić, 2014).

Metestrus

Razdoblje nakon estrusa u kojem dolazi do ovulacije. Stvoreni folikul bude otpušten s jajnika, a folikularna šupljina bude ispunjena krvlju i luteinskim stanicama i počinje se razvijati žuto tijelo. Metestrus traje 2 -3 dana. Dolazi do iscjetka sluzi s krvlju (Shearer, 1992). Počinje rast progesterona, vanjski znaci estrusa nestaju i životinja ne dozvoljava da bude zaskočena (Stančić, 2014).

Diestrus

Najdulje je razdoblje u estrusnom ciklusu. Razdoblje je funkcije žutog tijela. Žuto tijelo nastaje odmah nakon ovulacije, neovisno o tome hoće li doći do graviditeta žuto tijelo će se razviti i izlučuje velike količine progesterona. Ako oplođena stanica dođe do maternice žuto

tijelo će se održavati tijekom cijelog graviditeta, a ako graviditet izostane zadržat će se 17-18 dana nakon čega započinje ponovni ciklus (Shearer, 1992).

3.11. Aktivnost osi-hipotalamus-hipofiza-spolne žlijezde

Hipotalamus regulira izlučivanje gonadotropina iz adenohipofize pomoću releasing i inhibitornih hormona. Oni iz hipotalamusa krvotokom dolaze u adenohipofizu. Hipotalamus ima dva centra za regulaciju izlučivanja gonadotropina: epizodičko-tonički i pulzatorni. Epizodičko-tonični je odgovoran za sekreciju bazalnih koncentracija gonadotropina i održavanje germinalne i endokrine funkcije jajnika, a pulzatorni za nagli porast koncentracije LH i izazivanje ovulacije. Jajnici preko hormona estrogena i progesterona djeluju mehanizmom negativne povratne sprege na više centre inhibirajući djelovanje epizodičko-toničnog centra. U preživača koncentracija drugih hormona jajnika direktno ovisi o izlučivanju FSH. Druga dva važna peptida izolirana iz folikularne tekućine su aktivin koji potiče i folikulostatin koji inhibira lučenje FSH. Porast u lučenju LH i ovulaciju, razvoj žutog tijela i prijelaz u lutealnu fazu izaziva pozitivna povratna sprega estradiola. Glavnu ulogu regulacije sekrecije LH ima progesteron, čiji pad u cirkulaciji zbog regresije žutog tijela izaziva porast LH koji izaziva porast estradiola i dovodi do razvoja zrelih folikula i ovulacije (Kočila, 2005).

3.12. Utjecaj „NEB“ na reproduktivne pokazatelje

Brojna istraživanja pokazuju da su NEB i smanjenje reproduktivne učinkovitosti povezani. Krave koje su u NEB-u imaju duži interval od teljenja do početka ciklusa jajnika, što ukazuje na to da krave jednostavno mogu odgoditi svoje reproduktivne funkcije tako dugo dok energetska bilanca više ne ugrožava preživljavanje embrija ili fetusa. Krave s teškim NEB-om mogu smanjiti osjetljivost jajnika na LH. Folikul razvijen u takvim uvjetima vjerojatno će postati ne-ovulacijski i doći će do kašnjenja ciklusa (Vranković i sur., 2017).

Sladojević (2012) navodi da promjena koncentracije IGF-I u cirkulaciji, koje nastaju neadekvatnom ishranom, dovode do poremećaja u funkciji reproduktivnih organa. Utvrđivanjem koncentracije ovog hormona u serumu može se ocijeniti u kakvom se energetskom balansu nalazi životinja i predvidjeti kakve su njene reproduktivne mogućnosti. U slučaju NEB dolazi do smanjenja koncentracije inzulina i IGF-I, a povećava se koncentracija

hormona rasta u serumu. NEB može uzrokovati potpuni izostanak ovulacije ili dovesti do smanjenja preovulatornih folikula.

Folnožić (2016) navodi da NEB odgađa prvu postpartalnu ovulaciju, prilikom čega dolazi do produljenja servis perioda. Prva ovulacija nakon teljenja najčešće se javlja 10-14 dana nakon što NEB dostigne svoju najnižu razinu. Jedan od razloga kasnijeg povratka cikličke aktivnosti jajnika je smanjeno izlučivanje luteinizirajućeg hormona iz prednjeg režnja hipofize. NEB ne samo što smanjuje izlučivanje LH nego i smanjuje osjetljivost jajnika na stimulaciju LH. Uz štetno djelovanje NEB-a na jajnike važnu ulogu imaju i metabolički i endokrini hormoni inzulin, IGF-I, hormon rasta i leptin. Kod krava u NEB-u je smanjena količina glukoze i inzulina, za koji je utvrđeno da povećava odgovor jajnika na djelovanje gonadotropnih hormona i ima pozitivan učinak na bolji rast folikula. Prilikom nedovoljne koncentracije IGF-I i inzulina folikuli ne sintetiziraju dovoljne količine 17β-estradiola prilikom čega izostaje izlučivanje LH koji je nužan za izazivanje ovulacije.

3.13. Procjena opskrbe energijom i bjelančevinama temeljem sadržaja pojedinih sastojaka mlijeka

Proizvodnja i sastav mlijeka rezultat su složenih dinamičkih interakcija između životinje, hrane i okoline u kojoj se životinja uzgaja. Tradicionalnim uzgojno-selekcijskim tehnikama postižu se spore, a hranidbom brže promjene sastava mlijeka (Sutton, 1989.)

Najčešće se udjeli glavnih sastojaka u sirovom mlijeku nalaze u rasponu prikazanom u tablici 1. koja sadrži prosječne granične vrijednosti. Sastav mlijeka mijenja se utjecajem mnogih čimbenika. Sastav mlijeka pojedinih krava varira od mužnje do mužnje u toku istog dana, razlikuje se od dana do dana, mijenja se znatnije u toku laktacije (početak - kraj), ovisi o hranidbi, godišnjem dobu, fiziološkim promjenama, osobnim karakteristikama krava itd. Ovisno o sastavu mlijeka se mogu razlikovati, ali i procijeniti dnevne energetske potrebe krava.

Tablica 1. Granične vrijednosti sastojaka u sirovom mlijeku (Tratnik i Božanić, 2012)

• Udjel vode	86 – 89 %
• Udjel suhe tvari o mast o laktoza o proteini o pepeo	11 – 14 % 3,2 – 5,5 % 4,6 – 4,9 % 2,6 – 4,2 % 0,6 – 0,8 %

Dnevne energetske potrebe za proizvodnju mlijeka umnožak su količine mlijeka i količine energije u sastojcima mlijeka. Sadržaj mliječne masti najaviše određuje energetske potrebe krave za sintezu 1 kg mlijeka (Glavić i sur., 2016). Može se izračunati prema formuli:

NEL (MJ/d) = M x (0,0388 x M.M + 0,0228 X P + 0,0165 X L)

(**NEL** – neto energija za laktaciju potrebna za dnevnu proizvodnju mlijeka (MJ/d); **M** – dnevna proizvodnja mlijeka (kg/d); **M.M**. – mliječna mast (g/kg); 0,0388 – sadržaj energije u (MJ) u 1 g mliječne masti; **P** – protein mlijeka (g/kg); **0,0228** – sadržaj energije (MJ) u 1 g proteina mlijeka; **L** – laktoza ili mliječni šećer (g/kg); **0,0165** – sadržaj energije (MJ) u 1 g laktoze)

Urea

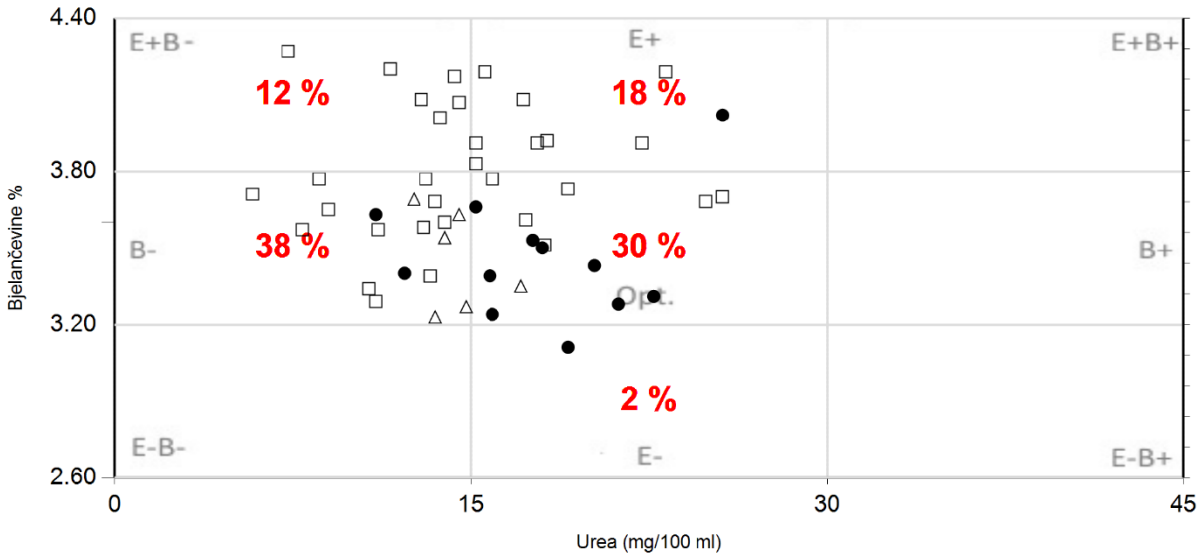
Prirodni je sastojak sline neophodan za mikrobnu probavu i preživljavanje krava. Hranidbom siromašnom proteinima 90% uree sintetizirane u jetri vraća se putem sline u burag. Mikrobi buraga za probavu hrane trebaju stalno suvišak amonijaka, a najviše ga dobiju iz uree sline. U buragu najviše amonijaka trebaju celulolitičke bakterije koje probavljaju vlakna. Zbog velike uloge uree u mikrobnoj probavi krave stalno razgrađuju dio proteina do amonijaka iz kojeg se u jetri stvara ureja koja se putem krvi ravnomjerno raspredi po cijelom organizmu i izlučuje mokraćom, mlijekom i najviše slinom koja dolazi u burag i hrani mikrobe. Ureja nam pokazuje opskrbljenost mikroba amonijakom, sintezu proteina mlijeka, plodnost krava i zagađenje okoliša. Općenito se smatra da sadržaj uree ispod 15-20 mg/100 ml pokazuje da mikrobi u buragu nemaju dovoljnog potrebnog amonijaka, a vrijednosti veće od 42-45 mg/100ml mlijeka upućuju na previše proteina u obroku i moguće reproduktivne probleme. Grbeša, 2019).

Tablica 2. Sadržaj uree u mlijeku pokazuje pravilnost opskrbe mikroba razgradivim proteinom i fermentirajućom energijom te krave metaboličkim bjelančevinama

Protein u mlijeku (%)	Ureja u mlijeku (mg/100 ml)	Hranidbeni status
< 3.2	< 15	Nedostatak ukupnog i/ili razgradljivog proteina i fermentirajuće energije u obroku krava (fermentirajući škrob, šećeri i pektini)
	15-30	Manjak fermentirajuće energije: fermentirajučeg škroba, šećera i pektina
	>30	Previše ukupnog i/ili razgradljivog proteina i manjak fermentirajuće energije, aminokiselinski neizbalansiran obrok
3.2 – 3.6	< 15	Manjak razgradljivog proteina i/ili blagi višak fermentiraujće energije
	15 – 30	Dovoljno proteina/razgradljivog proteina i fermentirajuće energije
	>30	Previše proteina/razgradljivog proteina i/ili blagi manjak fermentirajuće energije, aminokiselinski neizbalansiran obrok
>3.6	< 15	Nedovoljno razgradljivog proteina i/ili viša fermentirajuće energije
	15 – 30	Dovoljno proteina/razgradljivog proteina i fermentirajuće energije
	>30	Previše proteina/razgradljivog proteina, aminokiselinski neizbalansiran obrok

Izvor: Grbeša, 2019.

Tablica 2. nam prikazuje 9 mogućih kombinacija odnosa energije i proteina, koji se mogu grafički prikazati kao 9 kvadranata s oznakama: E+B-, E+, E+B+, B-, B+, E-B-, E=B(OPT), E-, E-B+ (slika 4).



Slika 4. Omjer bjelančevina i masti u mlijeku u odnosu na sadržaj bjelančevina u mlijeku (preuzeto iz izvještaja HPA)

Kvadrat „E+B-“ koncentracija uree je manja od 15 mg/100ml. U tu skupinu spadaju uglavnom krave koje su ušle u laktaciju predebele ili imaju visoku proizvodnju u prvim mjesecima. Početkom laktacije mobiliziraju tjelesne rezerve pa je vrlo velika vjerojatnost da će takve krave imati neke od metaboličkih poremećaja kao što su ketoza, dislokacija sirišta i reproduktivne probleme.

Kvadrat „E+“ U ovoj skupini nalaze se jedinke s optimalnim koncentracijama uree u mlijeku no javlja se višak energije. Optimalna razina proteina u mlijeku održava se opadanjem tjelesnih rezerva masti i proteina te se na taj način nastoji održati ravnoteža metabolizama. U ovoj skupini se nalaze jedinke koje su nakon teljenja ostale predebele te dolazi do slabljenje apetita. Takve krave gube na težini pa pothranjenost dovodi do reproduktivnih problema i ketoza.

Kvadrat „E+B+“ čine krave dobro opskrbljene kako energijom tako i proteinima. To su većinom krave potkraj laktacije gdje je i poželjno da se nadoknade rezerve izgubljene tijekom laktacije. Treba voditi računa da ne dođe do naglog nakupljanja hranjiva da ne bi došlo do prekomjernog tova životinje i kasnije problema u suhostaju, prilikom teljenja i za vrijeme početka laktacije. Kod ovih krava postoji rizik od zamašćenja u suhostaju. Najčešće se radi o jedinkama koje imaju slabiju mliječnost.

Kvadrat „B-“ skupina krava s visokom proizvodnjom u prvim mjesecima laktacije. U laktaciju su ušle u dobroj kondiciji, te imaju dobar apetit pa ne dolazi do mobilizacije tjelesnih rezervi. Krave su glede svog genetskog potencijala nedovoljno opskrbljene probavljivim proteinom, unatoč tome probava u buragu je nesmetana, ali može doći do problema sa probavljanjem organskih tvari, kao što je celuloza. Krave gube nešto na težini, sklone su mastitisima i postoji mogućnost problema s koncepcijom.

Kvadrat „B+“ skupina krava koje je dobro opskrbljena energijom ali unosi previše proteina. U ovo vrijeme može doći do prekomjernog nakupljanja tjelesnih rezervi u suhostaju, i u početku laktacije dolazi do prekomjerne mobilizacije tjelesnih rezervi i metaboličkih poremećaja.

Kvadrat „E-B-“ u ovoj grupi nalaze se jedinke čija je razina uree u mlijeku ispod 150mg l^{-1} te je koncentracija proteina niža zbog slabe opskrbljenosti razgradivim proteinima. U ovoj grupi najčešće se nalaze visoko mliječne krave do 4 mjeseca nakon teljenja te one koje su pothranjene i bolesne (Glavić, 2013). Zbog nedovoljne konzumacije količine voluminoznog obroka koji bi pokrio proizvodne potrebe kravama se dodaju veće količine koncentriranih

krmiva. Prevelike količine koncentriranih krmiva zbog smanjene konzumacije voluminoznog dijela obroka i smanjenja intenziteta preživanja prilikom kojeg se stvara slina koja djeluje kao pufer u buragu dolazi do subkliničke i kliničke acidoze.

Kvadrat „E-“ u ovu skupinu ubrajamo krave koje dobivaju slabo izbalansiran obrok ili obrok kod kojeg su krmiva slabije kvalitete pa ne sadrže dovoljne količine energije za podmirenje potreba. Isto tako može biti da se krave nalaze u kliničkoj ili subkliničkoj ketozi. Postoji mogućnost da krave imaju problema s papcima i većinom vremena leže pa ne konzumiraju dovoljno hrane za svoje potrebe.

Kvadrat „E-B+“ u ovoj skupini krave su hranjene s hranom koja je niskog energetskog sadržaja, s lako probavljivim proteinom i malom količinom celuloze što dovodi do razvoja energetskog deficita i relativnog viška bjelančevina. Energetski manjak u obroku negativno utječe na količinu celulolitičke mikroflore, što dodatno inhibira sintezu nižih masnih kiselina, prvenstveno octene kiseline. Osim učinka na sadržaj mliječne masti, nepovoljno će utjecati na sintezu estrogena, a time i na pojavu prvog postpartum estrusa i ovulacije (Savić i sur., 2015).

Kod krava koje su opskrbljene nedovoljnom količinom energije, a dovoljnom količinom proteina dolazi do stanja koje nepovoljno utječe na mliječnost i povećanu količinu amonijaka koji je neiskorišten od strane mikroorganizama buraga.

Količina bjelančevina u mlijeku manje je varijabilna. Najveći utjecaj na količinu imaju genetska osnova krave, stadij laktacije i hranidba. Proizvodnja mliječnih proteina je uveliko povezana sa sadržajem energije u obroku. Sintetiziraju se od aminokiselina koje najvećim dijelom nastaju djelovanjem mikroorganizama buraga, koji pak ovise o energiji obroka. Što je veća energetska vrijednost obroka mikroorganizama, nastaje veća količina mikrobnih aminokiselina, te se shodno tome sintetizira više mliječnih proteina. Kako se fermentacijom u buragu oslobađaju male količine razgranatih masnih kiselina koje su prekursori za sintezu masti, općenito se smatra da bjelančevine obroka malo utječu na količinu mliječne masti (Grbeša i Samardžija, 1994).

Visoko mliječne krave ne mogu dobiti dovoljno aminokiselina mikrobnom razgradnjom u buragu, te se moraju hraniti povećanim količinama aminokiselina koje potječu iz proteina hrane, a ne razgrađuju se u buragu. Kakvoća bjelančevina u hranidbi krava je mnogo važnija od njihove količine u pojedinom obroku. Kakvoća se mjeri obujmom opskrbe mikroba peptidima, postotkom nerazgrađenog proteina, te njegovim aminokiselinskim sastavom. Krmiva bogata nerazgrađenim bjelančevinama, koje su po udjelu esencijanih aminokiselina

slične bjelančevinama mlijeka, povoljno utječu na njihovu koncentraciju u mlijeku (Grbeša i Samardžija, 1994).

Dugoročno, neadekvatna opskrba krava energijom i proteinima imat će negativan utjecaj na izražavanje genetskog potencijala za proizvodnju mlijeka i reproduktivni učinak krava (Trifković i sur., 2015).

3.14. Povezanost nedostatka energije i proteina u mlijeku s reproduktivnim poremećajima

Visoko mliječne krave obično se hrane obrocima koji sadrže visoke razine sirovih proteina, kako bi se povećala proizvodnja mlijeka (Rhoads i sur., 2006). Ipak, pregledom literature je vidljivo kako hranidba prevelikom količinom proteina pridonosi zagađenju okoliša i uzrokuje povećane troškove uzgoja krava, ali i štetno utječe na njihov reproduktivni sustav (Biswajit i sur., 2011). Ureja se smatra normalnim sastojkom kravljeg mlijeka kao dio neproteinskog dušika, a normalne vrijednosti sadržaja uree u mlijeku kreću se od 10 do 15 mg/dl (Prpić i sur., 2005). Isto tako Grbeša (2019) navodi da sadržaj uree između 17-20 mg/100 ml pokazuje da mikrobi u buragu nemaju dovoljnog potrebnog amonijaka, a vrijednosti veće od 42-45 mg/100ml mlijeka upućuju na previše proteina u obroku i moguće reproduktivne probleme. Količina uree u mlijeku ovisi o količini unesenih razgradivih i nerazgradivih bjelančevina - ako je razina unesenih razgradivih proteina viša u odnosu na unesenu količinu energije, koncentracije uree biti će više. U literaturi se navodi da je koncentracija uree u mlijeku ili uree u krvi indikator utjecaja hrane bogate proteinima na reproduktivni sustav preživača, pri čemu su dobiveni rezultati raznoliki (Rajala-Shultz i sur., 2001; Rehak i sur., 2009; Biswajit i sur., 2011, Jankowska, 2011; Sawa, 2011).

3.14.1. Utjecaj nedostatka energije i proteina na plodnost

Napravljena je analiza utjecaja razine uree i proteina u mlijeku kroz četiri uzastopne laktacije na indekse plodnosti kod krava u Poljskoj (Jankowska i sur., 2011). Slabiji indeksi plodnosti utvrđeni su kod junica prve i druge laktacije koje su imale prehranu s manjkom energije i kod starijih (treća i četvrta laktacija) krava koje su hranjene visokom koncentracijom proteina i energije. Najbolja plodnost pronađena je kod mladih krava hranjenih visokom koncentracijom proteina (> 3,60%), bez obzira na razinu uree mlijeka, te kod starijih krava

koje imaju nižu i optimalnu koncentraciju uree u mlijeku, bez obzira na razinu proteina. Koeficijenti korelacije između razine uree i proteina mlijeka i indeksa plodnosti bili su vrlo niski, uz značajne razlike između sadržaja proteina i intervala teljenja i za vrijeme suhostaja.

3.14.2. Utjecaj nedostatka energije i proteina na ravnotežu hormona

Uravnotežen odnos hormona povoljno djeluje na reproduktivni sustav svih životinja. Progesteron je iznimno važan za vrijeme trudnoće krava, a koncentracija i izvor proteina u prehrani mogu imati izravan utjecaj na progesteron. U istraživanjima je zabilježeno kako je koncentracija progesterona plazme oko 30% niža kod krava sa visokom koncentracijom uree u krvnom serumu, što je rezultat prehrane bogate proteinima (Biswajit i sur., 2011). Dolazi se do zaključka kako smanjenje koncentracije progesterona direktno utječe na smanjenje plodnosti, što je potvrdilo ranije istraživanje u kojem je uočeno kako su koncentracije uree u mlijeku više kod ne gravidnih krava s nižim koncentracijama progesterona, u odnosu na ne gravidne krave s visokim koncentracijama progesterona (Larson, 1996) .

3.14.3. Utjecaj nedostatka energije i proteina na koncepciju

Koncentracija uree u mlijeku je korištena kao indikator uspješnosti oplodnje krava prilikom prve oplodnje u američkom istraživanju. Rezultati pokazuju da su krave sa visokim koncentracijama uree u mlijeku (> 16 mg/dl) od 0 do 30 dana prije prvog oplođivanja tijekom ljetnih mjeseci bile izložene većem riziku neuspjeha u usporedbi s kravama s niskom koncentracijom uree u mlijeku oplođivanih tijekom zimskih mjeseci (Melendez i sur., 1999). Ovakvi rezultati idu prilog ranijim istraživanjima pri čemu se razina koncepcije smanjuje pri koncentraciji uree većoj od 20 mg/dl ali i kasnijim istraživanjima koja su zaključila kako krave sa koncentracijom uree u mlijeku manjom od 10 mg / dl imaju dvostruko veću šansu za začećem nego krave čija je koncentracija uree u mlijeku veća od 15,4 mg/dl (Rajala-Schultz, 2001).

3.14.4. Utjecaj nedostatka energije i proteina na razvoj embrija

Studije su pokazale kako je koncentracija metabolita od iznimne važnosti za razvoj embrija, te kako svaka promjena može štetno utjecati na njegov razvoj. Studije in vitro pokazale su da urea djeluje tijekom sazrijevanja oocita i postoji realna mogućnost da direktno utječe i šteti razvoju embrija (Butler, 2005). Ipak promjene u okolišnim uvjetima unutar maternice, uzrokovane visokim koncentracijama uree u krvi ili plazmi, djeluju nepovoljno na razvoj embrija. Unatoč pretpostavkama i sumnjama kako urea utječe na razvoj embrija, dosadašnja istraživanja nisu donijeli konkretne zaključke, te se u budućnosti očekuju daljnja ispitivanja kako bi se utjecaj uree direktno povezao s razvojem embrija.

4. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj ovog rada je procijeniti razinu opskrbljenosti energijom i njen utjecaj na uspostavu spolnog ciklusa nakon teljenja i reproduktivne pokazatelje kod visokomliječnih krava.

5. MATERIJALI I METODE

Istraživanje je provedeno na farmi mliječnih krava „V.v. Farma“ na području Međimurske županije. Godišnja proizvodnja mlijeka na predmetnoj farmi iznosi 415.000 kg. U istraživanju je bilo uključeno ukupno 79 krava simentalske pasmine i njenih križanaca u razdoblju od veljače 2016. do siječnja 2018. godine. Ukupno je analizirano 1580 uzoraka mlijeka prikupljenih prilikom redovnih mjesečnih kontrola mliječnosti. Prilikom svake kontrole izmjerene su dnevne količine proizvedenog mlijeka, te uzeti uzorci koji su dostavljeni u Središnji laboratorij za kontrolu kakvoće mlijeka (SLMK) pri Hrvatskoj poljoprivrednoj agenciji (HPA). U uzorcima mlijeka analizirani su sljedeći parametri: mliječna mast, bjelančevine, laktoza, broj somatskih stanica i urea u mlijeku. Vrijednosti dnevne količine proizvedenog mlijeka izražene su u kilogramima, a sadržaj mliječne masti, bjelančevina i laktoze u postocima te sadržaj uree u mg/100ml mlijeka. Indeks masti i bjelančevina (IMB) izračunat je kao omjer sadržaja mliječne masti i bjelančevina u mlijeku.

Podaci o reproduktivnim pokazateljima (dana do prvog osjemenjivanja, dana do koncepcije i broj osjemenjivanja do koncepcije) za svaku pojedinu životinju preuzeti su iz evidencije farme i veterinarskog dnevnika.

Za obradu podataka korišten je Windows Office Excel unutar Windows Office 2007 paketa za selekciju i filtriranje podataka te program SAS 9.3 za statističku analizu.

Za prikaz dobivenih rezultata korištene su metode deskriptivne statistike (PROC MEANS). Testiranje utjecaja godine, sezone i stadija laktacije na sastav mlijeka i reproduktivne pokazatelje testiran je analizom varijance (PROC GLM), a povezanost pojedinih parametara mlijeka i reproduktivnih pokazatelja korištenjem Pearsonova koeficijenta korelacije uz prethodnu provjeru normalne raspodjele za promatrane parametre i njihove transformacije (log10).

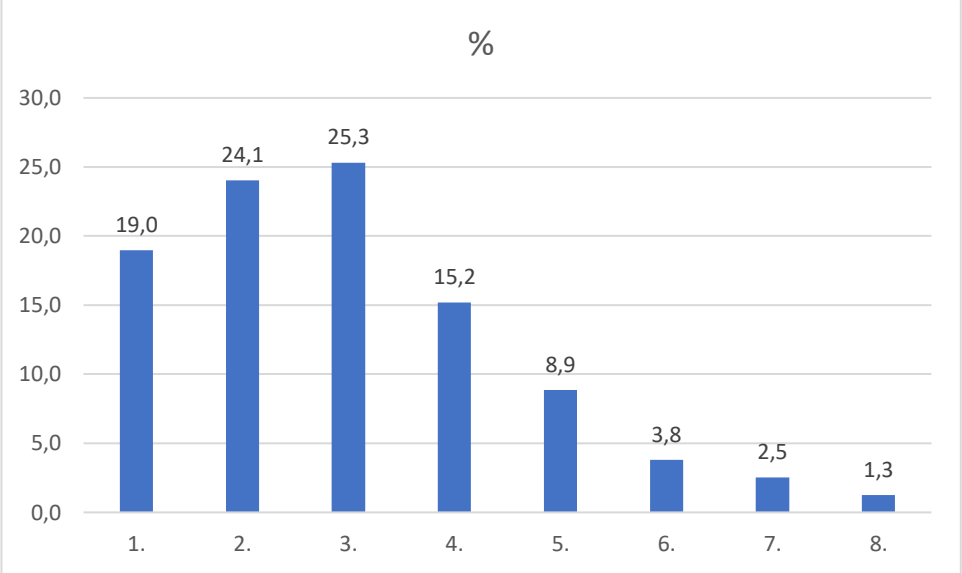
6. REZULTATI I RASPRAVA

U razdoblju od veljače 2016. do siječnja 2018. godine tijekom dvadeset mjesečnih kontrola mliječnosti prikupljeno je i analizirano ukupno 1.580 pojedinačnih uzorka mlijeka od 79 krava u laktaciji (tablica 3). Pri tome je izmjerena dnevna količina mlijeka, sadržaj masti, proteina, laktoze i uree u mlijeku te broj somatskih stanica. Dnevna količina mlijeka izražena je u kg, vrijednosti udjela mliječne masti, proteina i laktoze su izražene u postocima (%) dok je sadržaj uree u mlijeku izražen u mg/100ml.

Najveći broj analiziranih uzoraka mlijeka bio je kod prvotelki (628), a zatim s porastom redoslijeda laktacije broj analiziranih uzoraka opada. Struktura stada s obzirom na redoslijed laktacije prikazana je u grafikonu 1. Najveći udio u stadu imaju krave u drugoj i trećoj laktaciji (~50%) koje zajedno s prvotelkama čine gotovo ¾ stada. Udio krava od 4. do 8. laktacije se značajno smanjuje i čini manje od 20% svih krava.

Tablica 3. Broj analiziranih uzoraka s obzirom na redoslijed laktacije

Redoslijed laktacije	Broj analiziranih uzoraka mlijeka	Broj krava
1.	628	45
2.	274	38
3.	307	32
4.	163	19
5.	111	10
6.	56	5
7.	21	2
8.	20	1
UKUPNO	1.580	-



Grafikon 1. Struktura stada u analiziranom razdoblju s obzirom na redoslijed laktacije

Dnevna količina mlijeka i sastav mlijeka u promatranom razdoblju prikazani su u tablici 4.

Tablica 4. Utjecaj godine uzorkovanja na dnevnu količinu i prosječne vrijednosti sastojaka mlijeka

Parametar		2016 LSM[1] (SE)	2017 LSM[1] (SE)	2018 LSM[1] (SE)
		N=711	N=790	N=79
Dnevna količina mlijeka	**kg**	24,9 (0,37) a	26,9 (0,34) b	28,2 (1,09) b
Mliječna mast	**%**	4,14 (0,03)	4,19 (0,03)	4,25 (0,1)
Bjelančevine	**%**	3,53 (0,02)	3,56 (0,02)	3,64 (0,06)
Laktoza	**%**	4,55 (0,01)	4,53 (0,01)	4,53 (0,02)
Broj somatskih stanica	**log10**	5,04 (0,03)	5,03 (0,03)	5,14 (0,08)
Urea	**mg/100mL**	12,58 (0,27)	13,12 (0,25)	14,29 (0,79)
Indeks masti/bjelančevine		1,18 (0,01)	1,18 (0,01)	1,18 (0,02)

[1] LSM (SE) - korigirana srednja vrijednost (standardna greška)

Vrijednosti označene različitim slovom se statistički razlikuju kod P<0,05.

Kao što je vidljivo iz tablice 4, godina uzorkovanja imala je značajnog utjecaja na proizvedenu dnevnu količinu mlijeka dok se vrijednosti sastojaka mlijeka nisu značajno mijenjale. Nešto niže vrijednosti dnevne količine mlijeka zabilježene su u 2016. godini (24,9 kg) u odnosu na 2017. (26,9 kg) i 2018. godinu (28,2 kg). Prosječni sadržaj mliječne masti kretao se između 4,14% (2016.) i 4,25% (2018.), a bjelančevina između 3,53 % (2016.) i 3,64% (2018.) što se smatra uobičajenim vrijednostima za mlijeko simentalske pasmine koja dominira u analiziranom stadu. Tek manji dio krava čine njeni križanci s drugim (mliječnim) pasminama. Sadržaj uree u mlijeku pokazuje vrijednosti ispod 15mg/100ml što se smatra vrijednostima ispod optimalnih. Prema Grbeša (2019) optimalnim se smatraju vrijednosti uree između 17 - 35 mg/100ml, dok vrijednosti ispod 17-20 mg/100ml ukazuju na manjak u buragu raspoloživog amonijaka za potrebe mikrobne aktivnosti. Ukoliko se hranidba temelji na značajnom udjelu kukuruzne silaže i lucerne te nusproizvodima soje kao što je slučaj i u agroekološkim uvjetima SZ Hrvatske gdje se nalazi i istraživana farma za očekivati je vrijednosti uree u mlijeku između 22-29 mg/100ml (Noordhuizen, 2012) odnosno 24 mg/100ml (Grbeša, 2019). Prema Grbeša (2019) svako odstupanje od prosječne vrijednosti sadržaja uree u mlijeku za 6-8 mg/100 ml ukazuje na znatne promjene u sastavu obroka, mliječnosti, stadiju laktacije i drugim čimbenicima koji mogu imati utjecaja na njenu koncentraciju.

Sezona se smatra jednim od važnih čimbenika koji može imati značajnog utjecaja na dnevnu količinu i sastav mlijeka.

Budući da je analizirana farma na području kontinentalne klime za koju su karakteristična četiri godišnja doba analizirane mjesečne kontrole grupirane su prema mjesecima uzorkovanja u četiri sezone: proljeće (I), ljeto (II), jesen (III) i zima (IV).

U I. sezonu, koja označava proljeće uključene su kontrole tijekom mjeseca ožujka, travnja i svibnja. U II. sezonu - ljeto, uključene su kontrole iz lipnja, srpnja i kolovoza. U III. sezonu -jesen, uključene su kontrole iz rujna, listopada i studenog te u IV. sezonu – zima, kontrole iz prosinca, siječnja i veljače.

Stadij laktacije je definiran kao: period rane laktacije - prvih 60 dana nakon teljenja (I.), period između 60. i 120. dana laktacije (II.), period između 121. i 180. dana laktacije te period kasne laktacije iza 180. dana nakon teljenja.

Tablica 5. Utjecaj sezone na dnevnu količinu i sastav mlijeka u promatranom razdoblju.

Parametar		Sezona			
		I LSM (SE) [1]	II LSM (SE) [1]	III LSM (SE) [1]	IV LSM (SE) [1]
Dnevna količina mlijeka	**kg**	23,4 (0,44) a	25,46 (0,8) a	28,3 (0,45) b	25,8 (0,43) a
Mliječna mast	**%**	4,19 (0,04) ac	3,8 (0,07) b	4,14 (0,04) a	4,3 (0,04) c
Bjelančevine	**%**	3,57 (0,02) a	3,4 (0,04) b	3,6 (0,02) a	3,57 (0,02) a
Laktoza	**%**	4,56 (0,01)	4,52 (0,01)	4,52 (0,01)	4,54 (0,01)
Broj somatskih stanica	**Log10**	5,04 (0,03)	5,0 (0,03)	5,0 (0,03)	5,08 (0,03)
Urea	**mg/100mL**	11,9 (0,3) ac	14,0 (0,6) b	13,9 (0,3) b	12,7 (0,3) c
Indeks masti/bjelančevine		1,18 (0,01) ab	1,13 (0,01) a	1,15 (0,01) a	1,21 (0,01) b

[1] LSM (SE) - korigirana srednja vrijednost (standardna greška)

Vrijednosti označene različitim slovom se statistički razlikuju kod P<0,05.

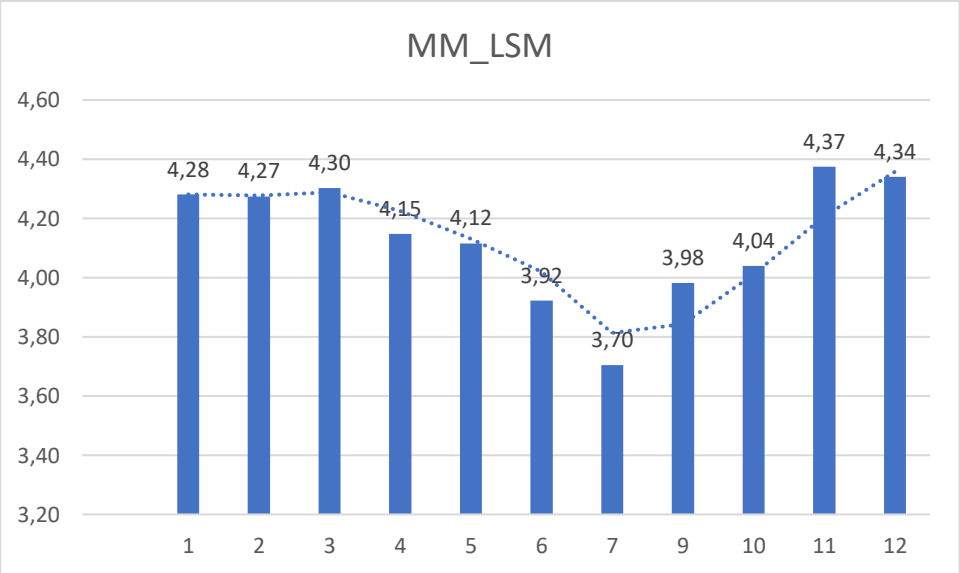
Kao što je vidljivo iz tablice 4 sezona je imala značajnog utjecaja na dnevnu količinu mlijeka kao i sastav mlijeka odnosno sadržaj masti, bjelančevina i uree u mlijeku dok je sadržaj laktoze kao i broj somatskih stanica ostao nepromijenjen.

U jesenskom razdoblju zabilježena je značajno veća dnevna količina mlijeka (P<0,05) u odnosu na ostala tri razdoblja između kojih nisu utvrđene značajne razlike. Nekolicina autora navodi da se u uvjetima kontinentalne klime najmanja količina mlijeka može očekivati u ljetnim mjesecima zbog izloženosti krava toplinskom stresu. Rezultati ovog istraživanja pokazuju da je u ljetnim mjesecima došlo do značajne promjene u sastavu mlijeka. Tako su u ljetnom razdoblju zabilježene značajno niže vrijednosti sadržaja mliječne masti i bjelančevina

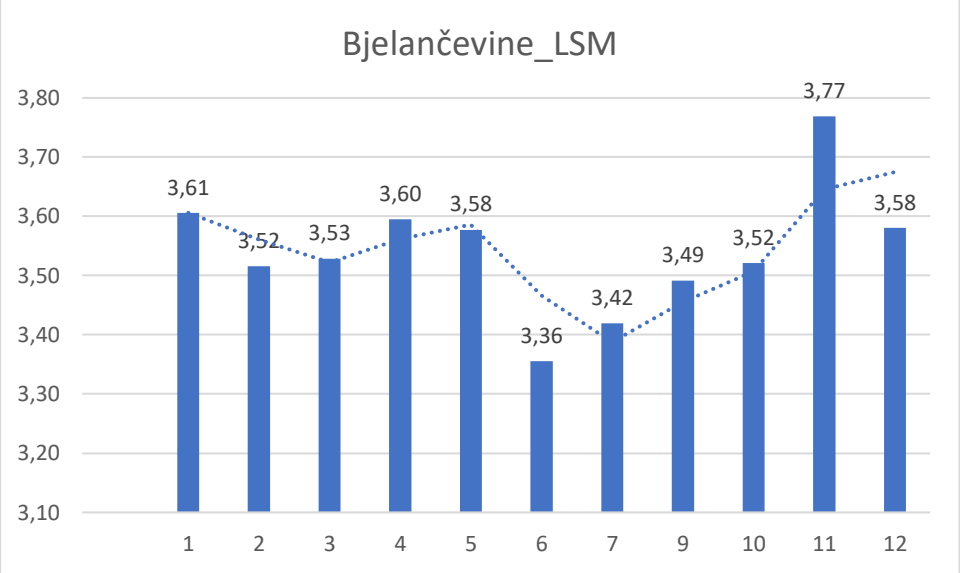
kao i veća varijabilnost između jedinki u odnosu na ostala tri promatrana razdoblja.

Promatrajući prosječni sadržaj mliječne masti tijekom promatranog razdoblja, najveći je uočen u zimskom (IV; 4,3%) razdoblju, a potom približno slične vrijednosti u proljetnom i jesenskom razdoblju (4,19% i 4,14%).

Nekolicina autora navodi da se zimi smanjuje mliječnost, raste udio suhe tvari u mlijeku, uključujući sadržaj mliječne masti i bjelančevina. Rezultati ovog istraživanja podudaraju se s istraživanjem Stipić i Ivanković (2012) koji navode da je udio mliječne masti najviši zimi. Također i sadržaj bjelančevina u mlijeku pokazuje da je on najveći u zimsko-proljetnom razdoblju, a najniži u ljetnom razdoblju. Gledajući pojedinačno kretanje sadržaja mliječne masti i bjelančevina po mjesecima (grafikon 2) vidimo da su najniže vrijednosti zabilježene u mjesecu srpnju. Podaci za kolovoz nisu dostupni budući da HPA u tom mjesecu ne provodi kontrolu mliječnosti na predmetnoj farmi. S obzirom na vrijednosti sadržaja mliječne masti iz lipnja i rujna za očekivati je da vrijednosti u kolovozu budu negdje između ovih vrijednosti i onih izmjerenih u mjesecu srpnju.

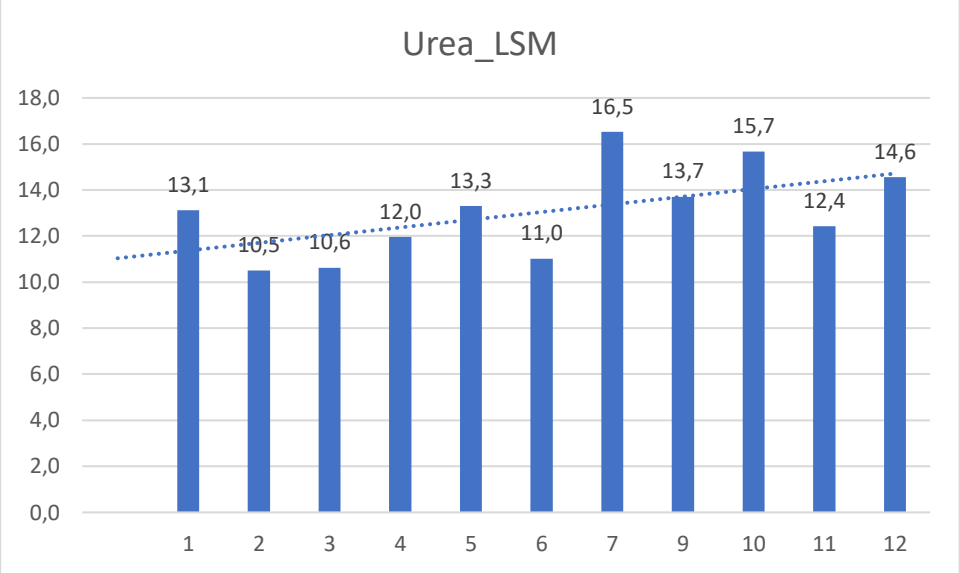


Grafikon 2. Utjecaj mjeseca uzorkovanja na koncentraciju mliječne masti (LSM - korigirana srednja vrijednost)



Grafikon 3. Utjecaj mjeseca uzorkovanja na koncentraciju bjelančevina u mlijeku (LSM - korigirana srednja vrijednost)

Poznato je da u uvjetima SZ Hrvatske najtopliji mjeseci u godini su srpanj i kolovoz, a u novije vrijeme česta su i topla razdoblja u lipnju. U uvjetima visokih okolišnih temperatura smanjuje se konzumacija i to prvenstveno voluminoznog dijela obroka. Posljedično smanjen je unos ukupne energije kao i vlakana čime se smanjuje mikrobna aktivnost i stvaranje prekursora za sintezu mliječne masti u mliječnoj žlijezdi. Također može doći do usporavanja sinteze mikrobnoga proteina i smanjenog sadržaja proteina u mlijeku. U uvjetima nedostatnog unosa energije mikropopulacija ne može iskoristiti sav raspoloživi N iz hrane pa se njegov suvišak nakon apsorpcije iz probavnog sustava (NH3) izlučuje iz organizma u obliku uree. Također u uvjetima smanjene konzumacije hrane (gladovanje) organizam poseže za zalihama u vlastitim tkivima uključujući i tkivne proteine što također može doprinijeti porastu sadržaja uree u mlijeku. Navedeno može dijelom objasniti činjenicu da je pojedinačno najveća koncentracija uree u mlijeku utvrđena u srpnju (grafikon 4).



Grafikon 4. Utjecaj mjeseca uzorkovanja na koncentraciju uree u mlijeka (LSM - korigirana srednja vrijednost)

Tablica 6. Utjecaj stadija laktacije na dnevnu količinu i sastav mlijeka

Parametar		Stadij laktacije			
Parametar		I LSM (SE) [1]	II LSM (SE) [1]	III LSM (SE) [1]	IV LSM (SE) [1]
Dnevna količina mlijeka	**kg**	32,26 (0,46)	29,72 (0,43)	26,58 (0,44)	21,16 (0,31)
Mliječna mast	**%**	4,1 (0,05) a	3,9 (0,05) b	4,07 (0,05) ab	4,39 (0,04) d
Bjelančevine	**%**	3,22 (0,02) a	3,37 (0,02) b	3,58 (0,02) c	3,79 (0,02) d
Laktoza	**%**	4,56 (0,01) a	4,57 (0,01) a	4,54 (0,01) ad	4,51 (0,01) d
Broj somatskih stanica	**Log10**	4,99 (0,04) ab	4,95 (0,04) a	5,05 (0,04) ab	5,1 (0,03) b
Urea	**mg/100 mL**	13,4 (0,4) a	13,8 (0,4) a	13,5 (0,4) a	12,0 (0,3) b
Indeks masti/bjelančevine		1,27 (0,01) a	1,16 (0,01) b	1,14 (0,01) b	1,16 (0,01) b

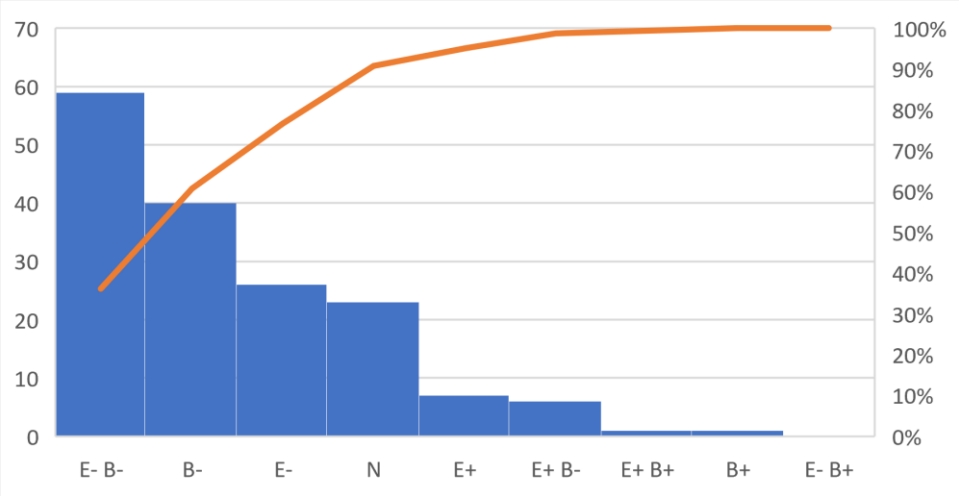
[1] LSM (SE) - korigirana srednja vrijednost (standardna greška)
Stadij laktacije: I – 0-60; II – 61-120; III - 121-180; IV - >180 dana
Vrijednosti označene različitim slovom se statistički razlikuju kod P<0,05.

Na sadržaj uree u mlijeku najveći utjecaj imaju hranidbeni čimbenici (67%-87%; Grbeša 2019) i zato se ona smatra dobrim pokazateljem hranidbenog statusa krava. Zajedno sa sadržajem bjelančevina u mlijeku ukazuje na izbalansiranost obroka energijom i proteinima. U uvjetima dovoljne količine proteina u obroku, sadržaj proteina mlijeka pokazuje opskrbu mikropopulacije buraga i krave energijom jer o raspoloživoj količini energije ovisi koliko će N iz proteina hrane biti ugrađeno u mikrobni protein i kasnije u protein mlijeka. S druge pak strane razina uree u mlijeku nam pokazuje razinu amonijaka u buragu koji nije iskorišten od strane mikroorganizama. Do njegova suviška u buragu dolazi zbog prevelikog unosa u buragu razgradivog proteina i/ili premalog unosa u buragu fermentirajuće energije obrokom. Temeljem sadržaja proteina i uree u mlijeku, jedinke se mogu razvrstati u 9 kvadranata s obzirom na suvišak ili nedostatak energije i proteina u obroku. Analizom 885 uzoraka mlijeka kroz promatrano razdoblje utvrđeno je da u 566 slučajeva ili njih 64% je utvrđena razina uree u mlijeku ispod 15 mg/100ml odnosno nedostatna opskrba krava proteinom. S druge pak strane u svega 4 (0,5%) uzorka utvrđen je suvišak proteina u obroku. S obzirom na procijenjenu opskrbu energijom kod 155 krava (17,5%) je utvrđen nedostatan unos energije obrokom dok je kod njih 225 (25,4%) utvrđen suvišak energije u obroku. U svega 190 analiziranih uzoraka (21,4%) je utvrđeno da potječu od krava hranjenih izbalansiranim obrokom.

Tablica 7. Raspodjela jedinki u razrede s obzirom na sadržaj uree i bjelančevina u mlijeku (N=885)

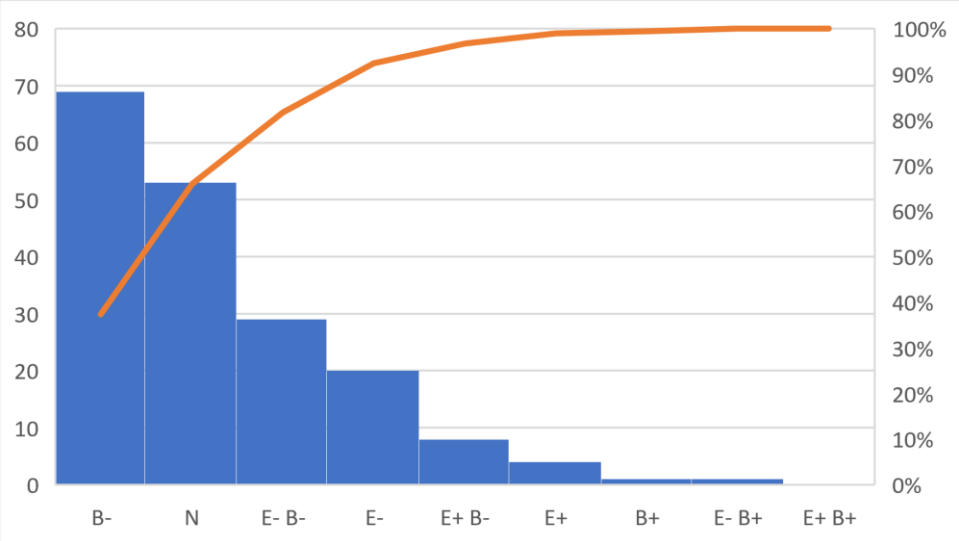
		E+		
E+ P-	150	74	1	E+P+
P-	313	**190**	2	P+
E-P-	103	51	1	E-P+
		E-		

S obzirom na to da je najosjetljivije razdoblje nedostatnog unosa hranjiva (energije i proteina) koje određuje uspješnost proizvodnje i utječe na reproduktivnu efikasnost razdoblje rane laktacije, u grafikonu 5 prikazana je distribucija krava s obzirom na opskrbljenost energijom i proteinima u razdoblju rane laktacije (<60 dana, I.).



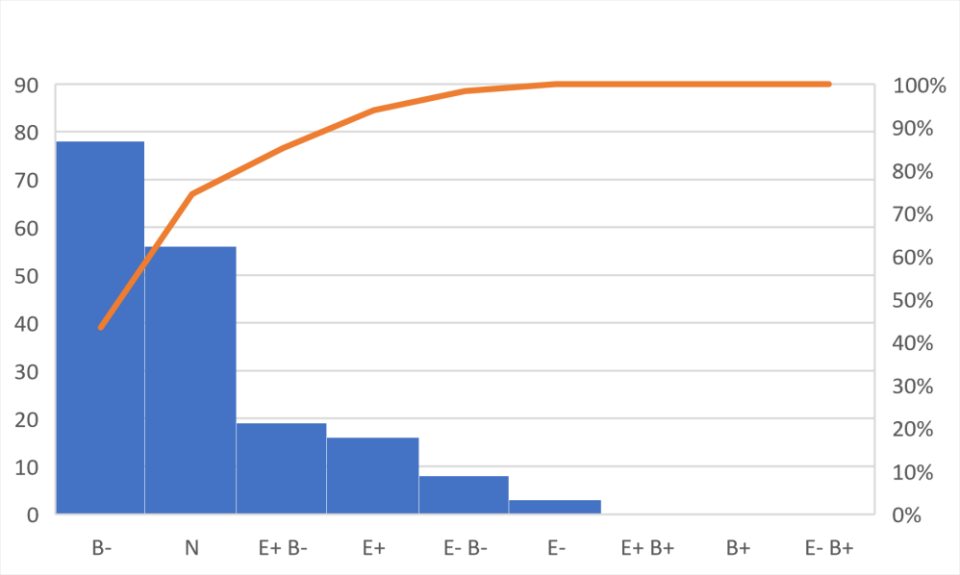
Grafikon 5. Distribucija jedinki u razdoblju rane laktacije (<60 dana, I) s obzirom na opskrbljenost energijom i proteinima

U 80% jedinki u razdoblju rane laktacije utvrđen je manjak energije i/ili proteina u obroku. U 63% jedinki u razdoblju rane laktacije utvrđen je manjak proteina u obroku, a kod njih 35% i manjak energije. Navedeno potvrđuje da su krave u ranoj laktaciji najizloženije nedostatnom unosu energije i proteina. U razdoblju između 60. i 120. dana laktacije u oko 40% krava utvrđen je nedostatan unos proteina dok je nedostatan unos energije utvrđen u oko 15% krava. U svega 25% krava utvrđen je izbalansirani unos energije i proteina obrokom.

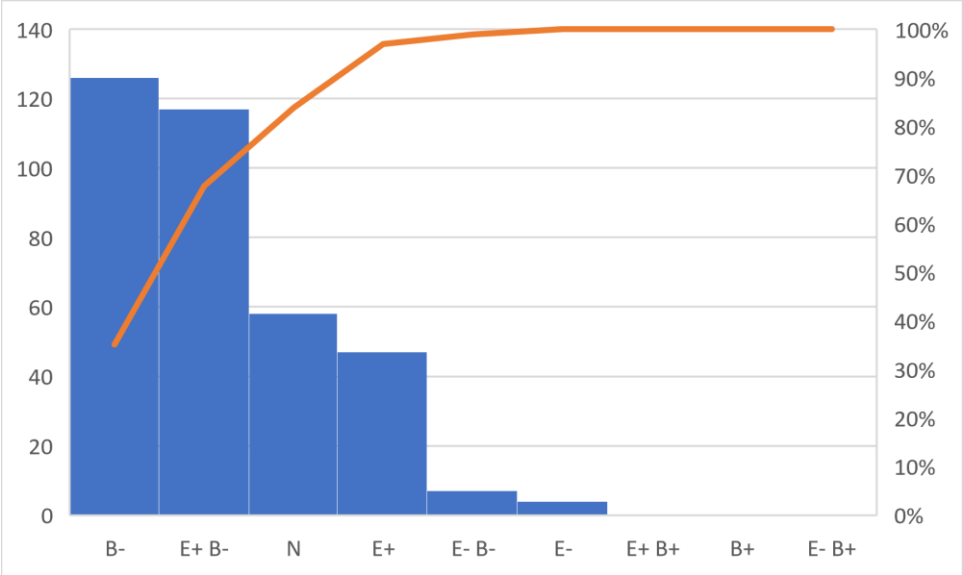


Grafikon 6. Distribucija jedinki u razdoblju između 60. i 120. dan laktacije (II) s obzirom na opskrbljenost energijom i proteinima

Analizirajući distribuciju krava s obzirom na opskrbljenost proteinima i energijom u razdoblju između 120. i 180. dana te razdoblju kasne laktacije (>180 dana) možemo uočiti da je i dalje kod velikog broja krava prisutan deficit proteina u obroku (55% odnosno 65%) dok raste broj krava s unosom energije iznad potreba (>50% krava). Navedeno je i za očekivati budući da se u razdoblju uznapredovale i kasne laktacije smanjuje mliječnost, a samim time u potrebe krava.

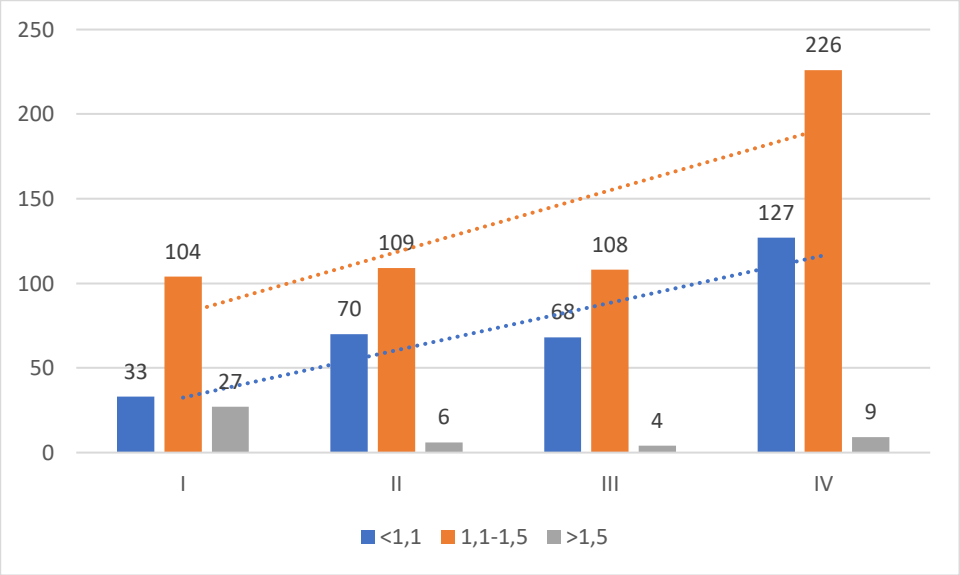


Grafikon 7. Distribucija jedinki u razdoblju između 120. i 160. dan laktacije (II) s obzirom na opskrbljenost energijom i proteinima



Grafikon 8. Distribucija jedinki u razdoblju kasne laktacije (>180. dana, IV) obzirom na opskrbljenost energijom i proteinima

Kao jedan od pokazatelja promjena u metabolizmu u ranoj laktaciji kao i prekomjernog unosa lako probavljivih ugljikohidrata može nam poslužiti indeks masti i bjelančevina u mlijeku (IMB). Uobičajene vrijednosti IMB su između 1,1 i 1,5. IMB veći od 1,5 najčešće je posljedica prekomjerne mobilizacije tjelesnih rezervi u prvoj fazi laktacije, neposredno nakon teljenja što je stanje karakteristično za ketozu i sindrom masne jetre. Takova stanja u prvoj fazi zbog visoke razine cirkulirajućih slobodnih masnih kiselina prati i povećana razina mliječne masti. S druge pak strane IMB manji od 1,1 je posljedica unosa velikih količina koncentriranih krmiva i ukazuje na moguću pojavu acidoze. Rezultati ovog istraživanja pokazuju da je kod značajnog broja krava utvrđen indeks masti i bjelančevina manji od 1,1 te da njihov broj raste s odmakom laktacije (20% na početku laktacije do 35% u kasnoj laktaciji). Navedeno sugerira da značajni dio obroka krava potječe iz krepkih krmiva što dolazi posebno do izražaja u kasnijem razdoblju laktacije kada raste konzumacija i smanjuju potrebe krava zbog manje mliječnosti. Nadalje u 15% krava na početku laktacije utvrđen je IMB veći od 1,5 što sugerira na pojavu metaboličkih poremećaja u istih. S odmakom laktacije njihov broj se značajno smanjuje i ne prelazi 2,5%.



Grafikon 9. Kretanje omjera sadržaja mliječne masti i bjelančevina (IMB) u odnosu na stadij laktacije

Poznato je da energetski deficit u razdoblju rane laktacije kao i povišena razina uree u mlijeku može imati negativne posljedice na zdravstveno stanje krava. Tu se misli u prvom redu na pojavu metaboličkih poremećaja (sindrom masne jetre, ketoza i dr.) ali i pojavu reproduktivnih poremećaja. Dok se zbog energetskog deficita smanjuje aktivnost osi

hipotalamus-hipofiza-jajnici i posljedično smetnje u funkciji spolnih organa krava (hormonska disfunkcija jajnika) kod unosa nedostatne količine proteina ili njegova suviška dolazi do smanjene aktivnosti spolnih žlijezda što ima za posljedicu pojavu prikrivenog spolnog ciklusa ili pak njegov potpuni izostanak. Nadalje, otežana je ovulaciju te nidacija oplođene jajne stanice i/ili nastupa rana embrionalnu smrtnost. Potonje se pripisuje učinku visoke razine uree u krvi koja mijenja pH sluznice reproduktivnog sustava, čime se narušava uobičajena mikroflora i stvaraju nepovoljni uvjeti za prihvat i razvoj oplođene jajne stanice. Nadalje, sinteza uree u jetri iz amonijaka metabolički je zahtjevan proces, troši puno energije što za krave u ranoj fazi laktacije još više produbljuje energetski deficit.

Iz veterinarskog dnevnika te evidencije na farmi u koju se unose sve dnevne promjene vezane za reproduktivne pokazatelje preuzeti su podaci o reproduktivnom statusu krava (pojava estrusa, vrijeme osjemenjivanja, kontrola graviditeta, zasušenje, datum teljenja). Temeljem podataka o teljenju određeno je za svaku jedinku (kravu) stadij laktacije u trenutku uzimanja uzoraka mlijeka.

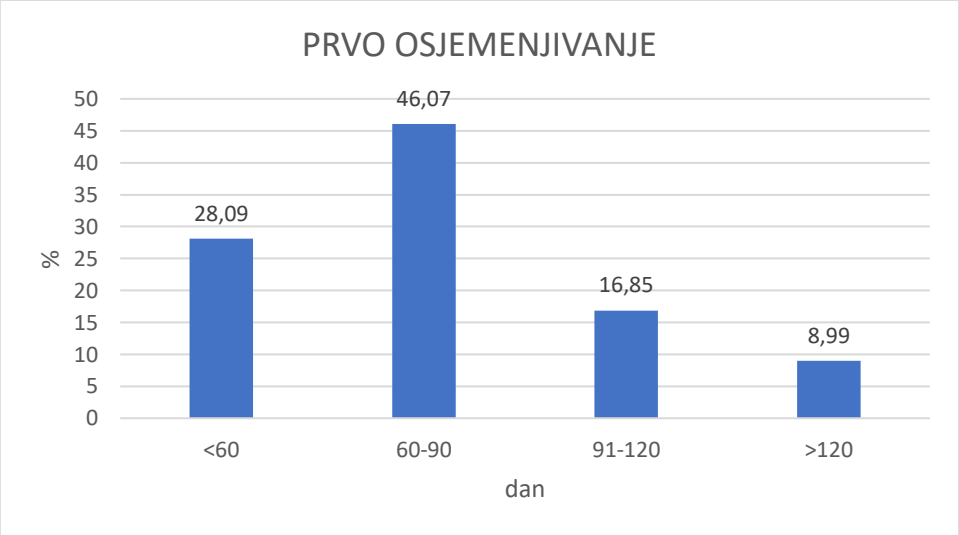
U tablici 8 prikazana je opisna statistika za reproduktivne pokazatelje krava u promatranom razdoblju. Prosječno trajanje razdoblja do prvog osjemenjivanja iznosilo je prosječno 77 dana (od 30-152 dana). Pri tome je prosječno razdoblje do koncepcije bilo 107 dana, a broj potrebnih osjemenjivanja 1,72.

Tablica 8. Opisna statistika reproduktivnih pokazatelja (N=89)

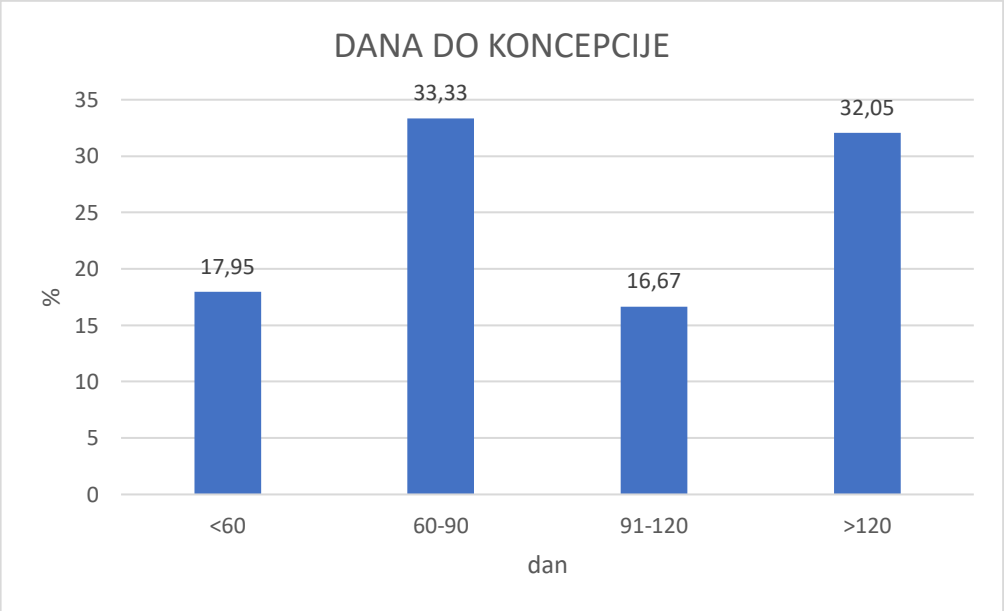
Parametar		Srednja vrijednost	Standardna devijacija	Minimum	Maksimum
Prvo osjemenjivanje	**dan**	77,07	27,02	30	152
Koncepcija	**dan**	107,32	60,33	32	365
Broj osjemenjivanja do koncepcije	**dan**	1,72	0,96	1	5

Analizirajući reproduktivne pokazatelje s obzirom na stadij laktacije (grafikon 10 i 11) možemo uočiti da je u 28% krava bilo zabilježeno prvo osjemenjivanje u prvih 60 dana laktacije, odnosno u njih 46% između 60. i 90. dana. Nadalje u 18% krava koncepcija je

nastupila unutar prvih 60 dana laktacije odnosno kod 51% krava u prvih 90 dana laktacije. Iz grafikona 10 je vidljivo da je čak približno 1/3 krava koncipirala u razdoblju iza 120. dana laktacije.

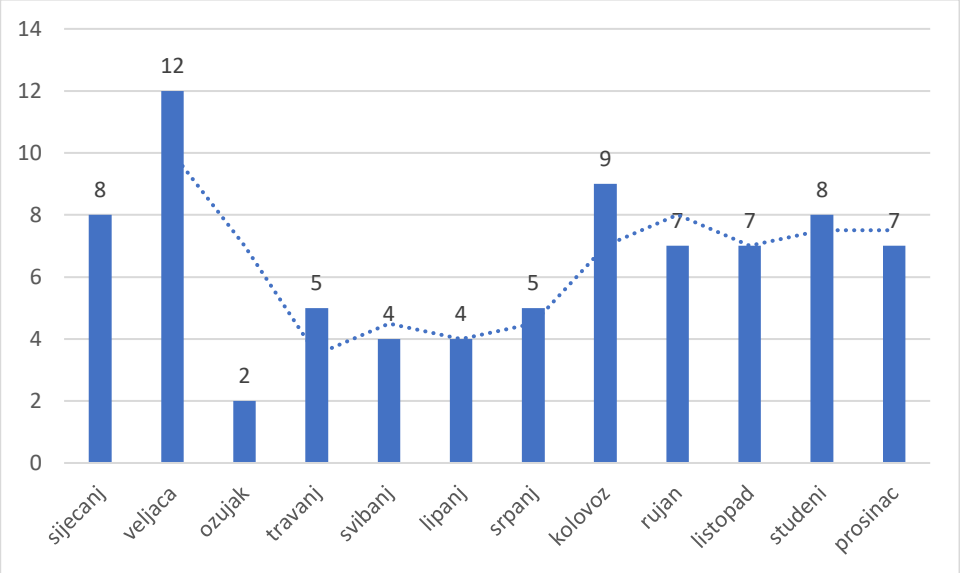


Grafikon 10. Raspodjela krava s obzirom na proteklo vrijeme do prvog osjemenjivanja (%).



Grafikon 11. Raspodjela krava s obzirom na proteklo vrijeme do koncepcije (%).

Najveća koncepcija zabilježena je u jesenskom i zimskom razdoblju (grafikon 12). U proljetnom i ljetnom razdoblju je zabilježena koncepcija kod manjeg broja krava što se pripisuje sezonalnosti teljenja (od srpnja do prosinca) ali i mogućem utjecaju visokih temperatura u kombinaciji s visokom relativnom vlagom zraka u kasno proljeće i ljeto.



Grafikon 12. Koncepcija kod krava po mjesecima

Neki autori smatraju da je uspješnost osjemenjivanja najveća kod krava koje u mlijeku imaju oko 25 mg/100 ml uree u mlijeku. U ovom istraživanju nisu zabilježene u niti jednom mjesecu ovakve vrijednosti uree u mlijeku. Najveće vrijednosti uree zabilježene su u periodu od kolovoza do prosinca što se podudara s razdobljem u kojem je zabilježena najveća koncepcija kod krava.

Povezanost između pojedinih sastojaka mlijeka i reproduktivnih pokazatelja nije utvrđena.

Analizirajući utjecaj sezone na sadržaj laktoze nisu utvrđene značajne razlike u njenoj koncentraciji što potvrđuje činjenicu da je ona najmanje varijabilni sastojak mlijeka. Dobranić i sur. (2008) u svom istraživanju navode da je udio laktoze najveći zimi i u proljeće, što se može dovesti u vezu s učestalijom pojavom upala vimena u navedenom razdoblju. Vrijednosti laktoze manje od 4,5% upućuju na mogućnost pojave upalnih procesa u vimenu, s obzirom na povećanu razgradivost laktoze (zbog prisutnosti mikroorganizama u vimenu). Kao dobar pokazatelj zdravstvenog stanja vimena tj. pojava upalnog procesa koristi se određivanje broja somatskih stanica u mlijeku. S obzirom na broj somatskih stanica krave se mogu podijeliti u četiri skupine, od zdravih onih s klinički vidljivim mastitisom. Raspodjela uzoraka s obzirom na broj somatskih stanica prikazan je u tablici 9. rezultati pokazuju da je kod blizu 19% uzoraka utvrđena povišen broj somatskih stanica odnosno neki od oblika upale vimena.

Tablica 9. Procjena zdravstvenog statusa vimena (mastitisa) temeljem broja somatskih stanica (N=891)

Broj somatskih stanica u ml	Reakcija (mastitis test)	Prosudba	Broj jedinki	%
> 2.000.000	jako pozitivna	vidljivi mastitis	26	2,9
500.000 – 2.000.000	pozitivna	skriveni mastitis	80	9,0
300.000 – 500.000	slabo pozitivna	skriveni mastitis	58	6,5
>300.000	negativna	zdravo vime	727	81,6

7. ZAKLJUČCI

Sadržaj pojedinih sastojaka u mlijeku kao što su proteini i urea te omjer masti i proteina (IMB) dobar su pokazatelj opskrbljenosti krava energijom i proteinima. Navedeni parametri nam pomažu u procjeni metaboličkog zdravlja krava te indirektno i zdravstvenog stanja stada.

Na temelju odnosa mliječne masti i bjelančevina te sadržaja bjelančevina i uree u mlijeku može se zaključiti da 17,5% uzoraka mlijeka potječe od krava nedovoljno opskrbljenih energijom. Razdoblje rane laktacije (prvih 60 dana) je najosjetljivije razdoblje s obzirom na dostatnu opskrbu energijom i proteinima kod krava na što ukazuje činjenica da 45% uzoraka mlijeka analiziranih u ovom razdoblju ukazuje na deficit unosa energije, a u 16,5% uzoraka utvrđen je IMB >1,5 što sugerira opsežnu mobilizaciju masti iz tjelesnih rezervi i pojavu metaboličkih poremećaja.

Utvrđene razine uree u mlijeku u najvećem broju uzoraka (71%) bile su ispod 15 mg/100ml što sugerira nedostatak ukupnog i/ili u buragu razgradivog proteina. U takvim uvjetima ne očekuje se utjecaj suviška uree na pojavu reproduktivnih poremećaja.

Uspostava spolnog ciklusa izražena kao razdoblje do prvog osjemenjivanja u većine krava bila je unutar 90 dana nakon teljenja (74%) dok u svega 9% krava to razdoblje je bilo dulje od 120 dana. Unatoč tome u čak 32% krava gravidnost je nastupila iza 120. dana laktacije što ukazuje na izostanak ovulacije i/ili postojanja nepovoljnih uvjeta za preživljavanje embrija (rana embrionalna smrtnost). Povezanost između pojedinih sastojaka mlijeka i reproduktivnih pokazatelja nije utvrđena.

8. LITERATURA:

1. Baumgrad L. H., Rhoads R. P. (2007): The effects of Heat Stress on Production and Its Nutritional Implications, Department of Animal Sciences, The University of Arizona, http://www.dairyweb.ca/Resources/PDCNW2007/Baumgard.pdf , 18.01.2019
2. Biswajit, R., Brahma, B., Gosh, S., Pankaj, P.K., Mandal, G. (2011): Evaluation Of Milk Urea Concentration As Useful Indicator For Dairy Herd Managment. Ajava, 6, 1 – 19.
3. Butler W. R. (2012): The Role of Energy Balance and Metabolism on Reproduction of Dairy Cows, Department of Animal Science, Cornell University, Ithaca, NY
4. Dashty M. (2013): A quick look at biochemistry: Carbohydrate metabolism, Clinical Biochemestri, Netherlands
5. Dobranić V., Njari B., Samardžija M, Mioković B., Resanović R. (2008): The influence of the season on the chemical composition and the somatic cell count of bulk tank cow's milk. Veterinarski arhiv 78 (3), 235-242.
6. Domaćinović M., Antunović Z., Mijić P., Šperanda M., Kralik D., Đidara M., Zmaić K., (2008): Proizvodnja mlijeka. Osiječko-baranjska županija, Osijek.
7. Filipović N., Stojević Z., Bačar-Huskić L. (2007): Energetski metabolizam u krava tijekom razdoblja rane laktacije, https://bib.irb.hr/datoteka/304397.praxis-n.filipovic-55-1-2.pdf , 18.01.2019
8. Fiore E., Piccione G., Arfuso F., Zumbo A., Gianesella M. (2017): Metabolic changes in dairy cows at different lactation class during the transition period, https://www.researchgate.net/publication/316487610 , 18.01.2019
9. Folnožić I., Dobranić T., Đuričić D., Turk ., Vince S., Grizelj J., Gračner D., Lojkić M., Valpotić H. i Samardžija M .: http://veterina.com.hr/?p=56398 , 12.02.2019.
10. Glavić, M., Zenunović, A., Budiša, A. (2016) Proizvonja mlijeka: priručnik za poljoprivredne proizvođače. USAID, Bosna i Hercegovina - Ambasada Švedske u BiH.
11. Grbeša D. (2019): Što nam pokazuje sadržaj ujeje u mlijeku, Zbornik predavanja 14. savjetovanja uzgajivača goveda u Republici Hrvatskoj. HPIH i MP, Zagreb.
12. Grbeša, D, Samardžija, D. (1994) Hranidba i kakvoća mlijeka. *Mlijekarstvo*, **44**, 119 – 132.
13. Havranek J., Rupić V. (2003): Mlijeko od farme do mljekare, Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb.

14. Jankowska, M., Sawa, A., Neja, W. (2011): Effect Of Milk Urea And Protein Levels On Fertility Indices In Cows. Journal of Central European Agriculture, 4, 475 – 479.
15. Jenness, R. (1986): Lactational performance of various mammalian species. J. Dairy Sci. 69, 869-885, https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030286804787/pdf?md5=df4a47de3b0bbbe3abf106740fd7e55b&pid=1-s2.0-S0022030286804787-main.pdf , 18.01.2019
16. Karlson P. (1993): Biokemija, Školska knjiga, Zagreb.
17. Kočila P. (2005): Utjecaj endogenog I egzogenog progesterone na tijek I ishod gravidnosti visoko mliječnih krava, magistarski rad, Veterinarski fakultet, Zagreb
18. Lance H. Baumgard, Laura J. Odens, Jane K. Kay, Robert P. Rhoads, Matthew J. VanBaale, Robert J. Collier (2006): Does Negative Energy Balance (NEBAL) Limit Milk Synthesis in Early Lactation. Arizona and New Mexico Dairy Newsletter, Month Article for July 2006.
19. Larson, S.F., Butler, W.R., Currie, W.B. (1996): Reduce fertility associated with low progesteron post breeding and increased milk urea nitrogen in lactating cows. Journal od dairy science, 80, 1288-1295.
20. Leroy J.L.M.R, Opsomer G., Van Soom A., Goovaerts I.G.F., Bols P.E.J. (2008): Reduced fertility in high-yielding dairy cows: are the oocyte and embryo in danger? part i: the importance of negative energy balance and altered corpus luteum function to the reduction of oocyte and embryo quality in highyielding dairy cows. Reprod Dom Anim, doi: 10.1111/j.1439-0531.2007.00960.x.
21. Lomander H. (2012): Energy Status Related to Production and Reproduction in Dairy Cows, Swedish University of Agricultural Sciences, Skara, Doktorski rad, https://pub.epsilon.slu.se/9048/1/lomander_h_120918.pdf , 18.01.2019
22. Makek Z., Samardžija M., Tomašković A., Dobranić T., (2007): Rasplođivanje krava I junica, Zagreb: Veterinarski fakultet Zagreb, 2007.
23. Mašek T., Šerman V., Mikulec Ž., Mas N., Valpotić H. (2005): Hranidba I postupak s mliječnim kravama u suhostaju, Krmiva 47, 127-135, Zagreb
24. Melendez, P., Donovan, A., Hernandez, J. (1999): Milk Urea Nitrogen and Infertility in Florida Holstein Cows. Journal of Dairy Science, 3, 459 – 463.
25. Nordhuizen J. (2014): Managing nutrition to improve the metabolic health and reproduction of dairy cows. Proceedings of the 46th Nottingham University Feed Conference, Nottingham, UK.

26. Pejaković D. (2001): Tjelesna kondicija krava, Hrvatski zavod za poljoprivrednu savjetodavnu službu, Zagreb
27. Prange R. W., Duby R.T. (2019): http://www.cnstn.rnrt.tn/afra-ict/ICT%20TOOLS%20RAF0026/INSEMINATION%20ARTIFICIELLE/References/ReprodAnatomyFeml-IRManual.pdf ,University of Massachusetts, 18.01.2019
28. Prpić, Z., Konjačić, M., Vnučec, I., Ramljak, J.,Ivanković, A. (2005): Nehranidbeni čimbenici sadržaja uree u mlijeku. Stočarstvo, 59, 173 – 187.
29. Rajala-Schultz, P.J., Saville, W.J.A., Frazer, G.S. (2001): Asocciation between milk urea nitrogen and fertility in Ohio cows. J Dairy Sci, 84, 482 -489.
30. Rehak, D., Rajmon, R., Kubešova, M. (2009): Relationships between milk urea and production and fertility traits in Holstein dairy herds in the Czech Republic. Czech J. Anim. Sci., 54, 193–200.
31. Rhoads, M.L., Rhoads, R.O., Gilbert, R. (2006) Detrimental effects of high plasma urea nitroge levels on viability of embrios from lactating dairy cows. Anim Reprod Sci, 91, 1 – 10.
32. Savić Đ. (2010): Etiopatogeneza zamašćenja jetre visokomliječnih krava, http://veterina.info/goveda/25-goveda/bolesti-goveda/1151-etiopatogeneza-zamascene-jetre-visokomlijecnih-krava,18.01.2019
33. Savić Đ., Jotanović S., Stančić I., Pračić N., Vekić M. (2015): Evaluation of cow's energy status changes during early lactation based on the concentrations of organic milk ingredients, Contemporary Agriculture, 64 (1-2), 46-53, 2015.
34. Sawa, A., Bogucki, M., Krezel-Czopek, S. (2011): Effect of some factors on relationships between milk urea levels and cow fertility. Arch Tierz, 5, 468-476.Shearer J. K. (1992): Reproductive Anatomy and Physiology od Dairy Cattle, Animal Science Department, Florida.
35. Sladojević Ž. (2012): Uticaj energetskog bilanca na endokrini i metabolički status krava, Doktorska disertacija, Beograd
36. Stančić I. B. (2014): Reprodukcija domaćih životinja, Unizerzitet u Novom sadu, Poljoprivredni fakultet.
37. Stipić I., Ivanković A. (2008): Utjecaj veličine obiteljske farme, sezone i managementa hranidbe na proizvodnju i kakvoću mlijeka. Stočarstvo 62:2008 (2) 103-121.
38. Stryer L., Berg J.M., Tymoczko J.L. (2013): Biokemija, Školska knjiga, Zagreb.
39. Sutton, J.D. (1989): Altering milk composition by feeding. *J. Dairy Scl.*, **72**, 2801.

40. Tratnik, Lj., Božanić, R. (2012): Mlijeko i mliječni proizvodi. Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb.
41. Trifković J., Savić Đ., Jotanović S., Vekić M. (2015): Organic milk ingredients as an indicator of energy status of cows with different milk production during the first 100 days of lactation, Agriculture & Forestry, Vol. 61 Issue 1: 251-259, 2015, Podgorica
42. Vernon, R. G. (2005): Lipid metabolism during lactation: a review of adipose tissue-liver interactions and the development of fatty liver. J. Dairy Res. 72, 460-469
43. Vranković L., Aladrović J., Octenjak D., Bijelić D., Cvetnic L., Stojević Z. (2017): Milk fatty acid composition as an indicator of energy status in Holstein dairy cows, University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine, https://www.arch-anim-breed.net/60/205/2017/aab-60-205-2017.pdf , 19.01.2019
44. Zobel R. (2011): Oblici, prepoznavanje, prevencija i liječenje ketoze u krava. http://veterina.com.hr/?p=5671, 18.01.2019