

UNIVERZA V LJUBLJANI

VETERINARSKA FAKULTETA

**VPLIV KRMLJENJA Z DODATKOM MAŠČOBNIH  
KISLIN OMEGA-3 IN OMEGA-6 NA POJATVENI  
CIKLUS KRAV V POPORODNEM OBDOBJU**

**EFFECT OF FEEDING WITH OMEGA-3 AND  
OMEGA-6 FATTY ACIDS SUPPLEMENT ON  
OESTROUS CYCLE IN POSTPARTUM PERIOD OF  
COWS**

Manca Hudobivnik

Kristina Rustja

Ljubljana, 2019



UNIVERZA V LJUBLJANI  
VETERINARSKA FAKULTETA

UDK 636.2.084:636.085.2:618.6:612.015.3:636.087:577.115.3(043.2)

**VPLIV KRMLJENJA Z DODATKOM MAŠČOBNIH KISLIN  
OMEGA-3 IN OMEGA-6 NA POJATVENI CIKLUS KRAV V  
POPORODNEM OBDOBJU**

**EFFECT OF FEEDING WITH OMEGA-3 AND OMEGA-6  
FATTY ACIDS SUPPLEMENT ON OESTROUS CYCLE IN  
POSTPARTUM PERIOD OF COWS**

Manca Hudobivnik

Kristina Rustja

Delo je pripravljeno v skladu s Pravilnikom o podeljevanju Prešernovih nagrad študentom, pod mentorstvom izr. prof. dr. Janka Mrkuna in somentorstvom doc. dr. Jožice Ježek na Kliniki za reprodukcijo in velike živali.

Ljubljana, 2019

## POVZETEK

Ključne besede: Prehrana živali; krma; hranična vrednost; prehranska dopolnila; laktacija; maščobne kisline – presnova; mleko – analize; progesteron; kemične analize krvi; govedo – presnova

Prireja mleka, zdravje in plodnost krav pomembno vplivajo na gospodarnost reje, dolgoživost krav ter število živali, potrebnih za remont črede. Plodnostne motnje so pogoste v čredah visoko proizvodnih molznic. Čas prve osemenitve pogostosovпадa z visoko mlečnostjo, ko je presnova krav najbolj obremenjena. Ustrezna prilagoditev prehrane krav v tem obdobju ima ugodne učinke na plodnost. Dodajanje maščob v krmo zviša koncentracijo energije v krmi ter s tem omili negativno energijsko bilanco in ugodno vpliva na plodnost. Namen raziskave je bil ugotoviti ali prehranski dodatek, ki vsebuje omega-3 in omega-6 maščobne kisline, pozitivno vpliva na reproduksijsko sposobnost in mlečnost krav, omili negativno energijsko bilanco ter ali s pomočjo merjenja vsebnosti progesterona v mleku lahko spremljamo pojatveni ciklus krav. V raziskavo smo vključili 10 krav molznic s srednje velike zasebne kmetije na Gorenjskem. Kravam smo od 20. dneva po telitvi do prve osemenitve v krmni obrok poleg ostale krme dodajali 1 kg krmnega dodatka z omega-3 in omega-6 maščobnimi kislinami. Krave smo spremljali z zbiranjem vzorcev mleka dvakrat na teden, dvakratnim odvzemom krvi ter z dvakratnim ultrazvočnim pregledom rodil in ocenjevanjem kondicije. Ugotovili smo, da je krmni dodatek z omega-3 in omega-6 maščobnimi kislinami numerično izboljšal mlečnost krav ter omilil negativno energijsko bilanco. Vplivov na reproduksijsko sposobnost nismo uspeli neposredno dokazati. Ugotovili smo, da je merjenje progesterona v mleku uporabna metoda za spremljanje pojatvenega ciklusa pri kravah. Zaradi majhnega vzorca krav in številnih drugih vplivov na plodnost bi bile za ovrednotenje učinka krmljenja z omega-3 in omega-6 maščobnimi kislinami na reproduksijsko sposobnost krav potrebne nadaljnje raziskave z večjim številom krav v enakovrednih skupinah.

## ABSTRACT

**Keywords:** Animal nutrition; animal feed; nutritive value; dietary supplements; lactation; fatty acids – metabolism; milk – analysis; progesterone; blood chemical analysis; cattle – metabolism.

Milk production, health and fertility of cows have a significant impact on the economy of farming, the longevity of cows and the number of animals needed for herd replacement. Fertility disorders are common in high-production dairy herds. The time of the first insemination often coincides with high milk production when the metabolism of the cow is most burdened. Adequate adaptation of the diet of cows during this period has beneficial effects on fertility. Adding fats to feed increases the energy density in the feed, thereby easing the negative energy balance and favorably affecting fertility. The aim of the research was to determine whether the nutritional supplement containing omega-3 and omega-6 fatty acids positively influences the reproductive performance and milk yield of the cows, alleviates the negative energy balance, and whether, by measuring the progesterone content in the milk the oestrous cycle of the cow can be monitored. We included 10 dairy cows from a medium-sized private farm in the Gorenjska region (Slovenia). From the 20th day after calving until the first insemination, in addition to other feed, we added 1 kg of feed additive containing omega-3 and omega-6 fatty acids to their feed rations. Cows were monitored by collecting milk samples twice a week, by taking blood twice and two ultrasound examination of the reproductive organs as well as by an assessment of body condition score twice. We found out that the feed additive containing omega-3 and omega-6 fatty acids numerically improved the milk yield of the cows and eased the negative energy balance. We have not been able to directly prove the effects on reproductive performance. We have found that the measurement of progesterone in milk is a useful method for monitoring the oestrous cycle in cows. Due to a small sample of cows and many other possible effects on fertility, further research with a higher number of cows in equivalent groups would be needed to evaluate the effect of feeding omega-3 and omega-6 fatty acids on the reproductive performance of cows.

## KAZALO VSEBINE

<b>1</b>	<b>UVOD .....</b>	<b>14</b>
1.1	OPREDELITEV PROBLEMA.....	14
1.2	CILJ RAZISKOVANJA .....	15
1.3	DELOVNE HIPOTEZE .....	15
<b>2</b>	<b>PREGLED LITERATURE .....</b>	<b>16</b>
2.1	FIZIOLOGIJA POJATVENEGA CIKLUSA .....	16
2.1.1	<b>Potek pojatvenega ciklusa.....</b>	<b>16</b>
2.1.1.1	Folikularna faza.....	16
2.1.1.1.1	Sinteza in funkcija estrogenov .....	17
2.1.1.1.2	Razvoj foliklov in priprava na ovulacijo .....	18
2.1.1.1.3	Ovulacija .....	20
2.1.1.2	Lutealna faza .....	20
2.1.1.2.1	Luteinizacija folikla .....	21
2.1.1.2.2	Sinteza in funkcije progesterona.....	22
2.1.1.2.3	Luteoliza .....	23
2.1.2	<b>Metode za ugotavljanje faze pojatvenega ciklusa.....</b>	<b>24</b>
2.1.2.1	Opazovanje obnašanja.....	25
2.1.2.2	Aktivnost živali .....	26
2.1.2.3	Progesteronski test.....	26
2.1.2.4	Električna upornost vaginalne sluzi .....	28
2.1.2.5	Pregled rodil z ultrazvokom .....	29
2.2	POPORODNO OBDOBJE .....	30
2.2.1	<b>Involucija rodil.....</b>	<b>30</b>
2.2.2	<b>Vzpostavitev ciklusa po telitvi .....</b>	<b>31</b>
2.2.3	<b>Reprodukcijski parametri .....</b>	<b>33</b>
2.2.3.1	Servisni interval.....	33
2.2.3.2	Servisna perioda .....	33
2.2.3.3	Poporodni premor.....	33
2.2.3.4	Doba med telitvama .....	34
2.2.3.5	Indeks uspešnosti osemenitev .....	34
2.2.3.6	Non-return .....	34

<b>2.3 VPLIV PREHRANE IN PRESNOVNIH MOTENJ NA POJATVENI CIKLUS</b> ....	<b>34</b>
<b>2.3.1 Oskrbljenost z vitaminimi in minerali .....</b>	<b>34</b>
<b>2.3.2 Subklinična vampova acidoza .....</b>	<b>35</b>
<b>2.3.3 Negativna energijska bilanca.....</b>	<b>36</b>
2.3.3.1 Presnova maščob skozi laktacijo.....	37
<b>2.3.4 Telesna kondicija .....</b>	<b>38</b>
2.3.4.1 Ocena telesne kondicije.....	38
2.3.4.2 Spreminjanje kondicije med laktacijo .....	38
2.3.4.3 Vpliv kondicije na reprodukcijo.....	40
<b>2.4 MAŠČOBNE KISLINE.....</b>	<b>41</b>
<b>2.4.1 Maščobne kisline.....</b>	<b>41</b>
<b>2.4.2 Prebava maščobnih kislin pri prežvekovalcih .....</b>	<b>42</b>
2.4.2.1 Mikrobnna prebava maščobnih kislin v predželodcih.....	43
2.4.2.2 Prebava maščobnih kislin v tankem črevesu.....	45
<b>2.4.3 Vplivi maščobnih kislin v prehrani na plodnost krav .....</b>	<b>46</b>
2.4.3.1 Oskrba z esencialnimi maščobnimi kislinami .....	46
2.4.3.2 Energijska bilanca in izločanje LH .....	47
2.4.3.3 Okrepitev lutealne steroidogeneze .....	48
2.4.3.4 Vpliv nenasičenih maščobnih kislin na luteolizo.....	49
2.4.3.4.1 Vpliv prostaglandinov na ovulacijo.....	50
<b>3 MATERIALI IN METODE .....</b>	<b>51</b>
<b>3.1 MATERIALI .....</b>	<b>51</b>
<b>3.1.1 Prehrana živali.....</b>	<b>52</b>
<b>3.1.2 Ocena telesne kondicije živali.....</b>	<b>53</b>
<b>3.1.3 Vzorčenje in odvzem vzorcev .....</b>	<b>53</b>
<b>3.2 METODE.....</b>	<b>54</b>
<b>3.2.1 Biokemijske preiskave.....</b>	<b>54</b>
<b>3.2.2 Imunokemijske analize .....</b>	<b>54</b>
<b>3.2.3 Pregled rodil s transrektnim ultrazvokom.....</b>	<b>55</b>
<b>3.2.4 Pregled kontrole mleka (AT4) .....</b>	<b>55</b>
<b>3.2.5 Statistična obdelava podatkov .....</b>	<b>55</b>
<b>4 REZULTATI.....</b>	<b>56</b>

4.1	LABORATORIJSKE PREISKAVE.....	56
4.1.1	Preiskava krvi .....	56
4.1.2	Preiskava mleka.....	58
4.2	KLINIČNI PREGLED.....	63
4.2.1	Transrektalna ultrazvočna preiskava rodil .....	63
4.2.2	Ocena kondicije krav .....	65
4.3	REZULTATI KONTROL MLEČNOSTI (AT4) .....	66
4.4	USPEŠNOST REPRODUKCIJE .....	68
5	RAZPRAVA.....	69
5.1	LABORATORIJSKE PREISKAVE.....	69
5.1.1	Preiskava krvi .....	69
5.1.2	Preiskava mleka.....	71
5.2	KLINIČNI PREGLED.....	72
5.2.1	Transrektalna ultrazvočna preiskava rodil .....	72
5.2.2	Ocena kondicije krav .....	72
5.3	REZULTATI KONTROL MLEČNOSTI (AT4) .....	72
5.4	USPEŠNOST REPRODUKCIJE .....	74
6	SKLEPI .....	76
7	ZAHVALE .....	77
8	LITERATURA .....	78

## KAZALO TABEL

Tabela 1: Zaporedna laktacija krav v v času poskusa .....	51
Tabela 2: Sestava obroka.....	52
Tabela 3: Vsebnost hranljivih snovi v obroku.....	52
Tabela 4: Rezultati preiskav krvi.....	57
Tabela 5: Rezultati, dobljeni pri transrektalni ultrazvočni preiskavi rodil .....	64
Tabela 6: BCS krav ob pregledih .....	65
Tabela 7: Rezultati mlečne kontrole za prve 3 mesece po telitvi .....	67
Tabela 8: Uspešnost reprodukcije v predhodni laktaciji in laktaciji v času poskusa .....	68

## KAZALO SLIK

Slika 1: Regulacija hormonov (Senger, 2005a).....	17
Slika 2: Sinteza estradiola (Senger, 2005a) .....	18
Slika 3: Dinamika foliklov (Senger, 2005a) .....	20
Slika 4: Gibanje koncentracije progesterona skozi pojatveni cikel (Senger, 2005b) .....	21
Slika 5: Sinteza progesterona (Senger, 2005b).....	22
Slika 6: Protitočni sistem izmenjave PGF <sub>2α</sub> iz utero-ovarialne vene v ovarialno arterijo (Senger, 2005b).....	24
Slika 7: Detektor zaskoka ( <a href="http://www.kamarinc.com/">http://www.kamarinc.com/</a> , 30.10.2018) .....	26
Slika 8: Koncentracija estrogena (E2) in progesterona (P4) skozi pojatveni cikel (Senger, 2005b).....	27
Slika 9: Detektor estrusa, ki meri električno upornost vaginalne sluzi ( <a href="https://www.draminski.com/agri/estrous-detectors/draminski-estrous-detector-for-cows-and-mares/">https://www.draminski.com/agri/estrous-detectors/draminski-estrous-detector-for-cows-and-mares/</a> , 30.10.2018) .....	28
Slika 10: Spreminjanje električne upornosti vaginalne sluzi skozi pojatveni ciklus (Heckman in sod., 1979) .....	28
Slika 11: Ultrazvočni prikaz jajčnika z rumenim telesom (levo) in foliklom (desno) (Foto: Mrkun, osebni arhiv) .....	30
Slika 12: Sprejemljiv profil spremjanja kondicije po telitvi (Roche in sod., 2009).....	39
Slika 13: Kemična struktura linolne kislina ( <a href="https://sl.wikipedia.org/wiki/Linolna_kislina">https://sl.wikipedia.org/wiki/Linolna_kislina</a> ) ..	41
Slika 14: Kemična struktura linolenske kisline ( <a href="https://sl.wikipedia.org/wiki/Linolenska_kislina">https://sl.wikipedia.org/wiki/Linolenska_kislina</a> ).....	42
Slika 15: Presnova omega-6 (n-6) in omega-3 (n-3) maščobnih kislin (Mattos in sod., 2000).....	42
Slika 16: Mikrobna prebava maščob v vampu (Lock, 2006) .....	44
Slika 17: Prebava maščob v tankem črevesju (Lock, 2006).....	45
Slika 18: Koncentracija progesterona v mleku v odvisnosti od časa po telitvi za kravo 1 (poskusna skupina). Progesteronski profil je nepravilen. ....	58
Slika 19: Koncentracija progesterona v mleku v odvisnosti od časa po telitvi za kravo 2 (poskusna skupina). Progesteronski profil je pravilen. ....	59
Slika 20: Koncentracija progesterona v mleku v odvisnosti od časa po telitvi za kravo 3 (poskusna skupina). Progesteronski profil je nepravilen. ....	59
Slika 21: Koncentracija progesterona v mleku v odvisnosti od časa po telitvi za kravo 4 (poskusna skupina). Progesteronski profil je nepravilen. ....	60
Slika 22: Koncentracija progesterona v mleku v odvisnosti od časa po telitvi za kravo 5 (poskusna skupina). Progesteronski profil je nepravilen. ....	60
Slika 23: Koncentracija progesterona v mleku v odvisnosti od časa po telitvi za kravo 6 (kontrolna skupina). Progesteronski profil je pravilen. ....	61
Slika 24: Koncentracija progesterona v mleku v odvisnosti od časa po telitvi za kravo 7 (kontrolna skupina). Progesteronski profil je pravilen. ....	61
Slika 25: Koncentracija progesterona v mleku v odvisnosti od časa po telitvi za kravo 8 (kontrolna skupina). Progesteronski profil je nepravilen. ....	62

- Slika 26: Koncentracija progesterona v mleku v odvisnosti od časa po telitvi za kravo 9 (kontrolna skupina). Progesteronski profil je pravilen.....62
- Slika 27: Koncentracija progesterona v mleku v odvisnosti od časa po telitvi za kravo 10 (kontrolna skupina). Progesteronski profil je pravilen.....63
- Slika 28: Spreminjanje BCS preiskovanih krav po telitvi in prikaz referenčnih vrednosti povzeti po Roche in sod. (2009). 1–5: poskusna skupina; 6–10: kontrolna skupina. 66

## SEZNAM OKRAJŠAV IN SIMBOLOV

Alb	albumini
ARA	arahidonska kislina
AST	aspartat aminotransferaza
BCS	telesna kondicija; body condition score
BHB	beta-hidroksibutirat
CSB	celotne serumske beljakovine
DHA	dokozahexaenojska kislina
DMT	doba med dvema telitvama
ELFA	encimsko imunski test s fluorescenčno detekcijo; enzyme linked fluorescent assay
EPA	eikozapentaenojska kislina
FFA	proste maščobne kisline
FSH	folikel stimulirajoči hormon
GGT	gama glutamil transferaza
GnRH	gonadotropin sproščajoči hormon, gonadoliberin
IGF-1	inzulinu podoben rastni dejavnik ena
LDL	lipoprotein visoke gostote

LH	luteinizirajoči hormon
NEB	negativna energijska bilanca
NEFA	neesterificirane maščobe
PGE <sub>2</sub>	prostaglandin E <sub>2</sub>
PGF <sub>2α</sub>	prostaglandin F <sub>2α</sub>
PRG	progesteron
PUFA	večkrat nenasičena maščobna kislina
RIA	radioimmunoassay
SI	servisni interval
SP	servis perioda
SS	suha snov
VLDL	lipoproteini z zelo nizko gostoto

## 1 UVOD

Učinkovita reprodukcija je v čredah krav zelo pomembna. S selekcijo krav na večjo mlečnost se je učinkovitost reprodukcije zmanjšala. Na reprodukcijo sicer poleg genov vplivajo tudi prehrana, okolje, zdravje parkljev ... Sedaj se veliko pozornosti posveča selekciji na več parametrov, ne le na enega (mlečnost). Živali lahko izkoristijo genetski potencial, če so jim zagotovljeni primerni pogoji, med njimi tudi prehrana. Za začetek cikličnosti krav po telitvi ima le-ta zelo pomembno vlogo. Če določene hranične snovi ni dovolj, je večja verjetnost za pojav (subkliničnih) bolezni in slabše plodnosti živali, saj je reprodukcija možna šele, ko so pokrite ostale potrebe. Eden izmed načinov za izboljšanje reprodukcije je dodajanje maščob v krmni obrok, saj maščobne kisline zvišajo koncentracijo energije v krmi (Ferguson in sod., 1990) ter s tem omilijo negativno energijsko bilanco (NEB), spremenijo razvoj foliklov (Dirandeh in sod., 2013), zvišajo koncentracijo progesterona (Staples in sod., 1998), preprečijo luteolitične signale v zvezi z materialno prepoznavo brejosti (Mattos in sod., 2000) in izboljšajo kakovost zarodkov (Cerri in sod., 2009).

### 1.1 OPREDELITEV PROBLEMA

Učinovita reprodukcija krav je eden od najpomembnejših pogojev za gospodarno prirejo mleka. Selekcija je omogočila visoko produkcijo mleka na posamezno kravo, kar za seboj potegne večjo obremenitev organizma, ki pomeni večje tveganje za pojav bolezni in reprodukcijskih motenj.

Idealno naj bi poporodni premor trajal 85 dni, a je tudi na račun visoke mlečnosti krav teže dosegljiv (rejci se zato ob visoki mlečnosti pogosto zavestno odločijo za kasnejši priupust, kar imenujemo prostovoljna doba čakanja). Krave na račun visoke produkcije mleka po telitvi pogosto zapadejo v NEB, ki podaljša poporodno anestrijo in zniža frekvenco LH valov, ki so nujni za razvoj ovarijskih foliklov v preovulatorne folikle (Mattos in sod., 2000). Krave kasneje vzpostavijo normalen ciklus, kar pomeni kasnejšo osemenitev, podaljšanje časa med dvema telitvama in ekonomsko manj upravičeno prirejo mleka.

Redno dodajanje maščob v dnevni obrok poveča koncentracijo energije v obroku, kar pomeni večjo količino zaužite energije in izboljšanje energijske bilance (Mattos in sod., 2000). Nenasičene maščobne kisline tudi stimulirajo delovanje jajčnikov in z vplivom na hormonalno aktivnost vplivajo na lažjo implantacijo zarodka (Cerri in sod., 2009).

## 1.2 CILJ RAZISKOVANJA

Cilj raziskovanja je ugotoviti, ali dodajanje nenasičenih maščobnih kislin (omega-3 in omega-6) v obrok vpliva na reprodukcijsko aktivnost krav ter na mlečnost in sestavo mleka.

Obstajajo vedno trdnejši dokazi, da dodajanje nenasičenih maščobnih kislin (linolna in linolenska kislina, EPA, DHA) vpliva na plodnost krav. Izboljšanje plodnosti gre na račun stimulacije aktivnosti jajčnikov po telitvi in mogoče tudi na račun povečane produkcije in/ali zmanjšanega očistka progesterona. Maščobne kisline tudi z vplivom na zmanjšanje izločanja PGF<sub>2α</sub> in s spodbujanjem antiluteolitične funkcije interferona τ (tau) pripomorejo k boljšim reprodukcijskim rezultatom (Thatcher in sod., 2004).

## 1.3 DELOVNE HIPOTEZE

1. Dodajanje nenasičenih maščobnih kislin v krmni obrok molznic ugodno vpliva na pojatveni ciklus krav.
2. Dodajanje nenasičenih maščobnih kislin v krmni obrok omili negativno energijsko bilanco.
3. Dodajanje nenasičenih maščobnih kislin v krmni obrok pozitivno vpliva na mlečnost krav.
4. Merjenje vsebnosti progesterona v mleku je uporabna metoda za spremeljanje pojatvenega ciklusa krav.

## 2 **PREGLED LITERATURE**

### 2.1 FIZIOLOGIJA POJATVENEGA CIKLUSA

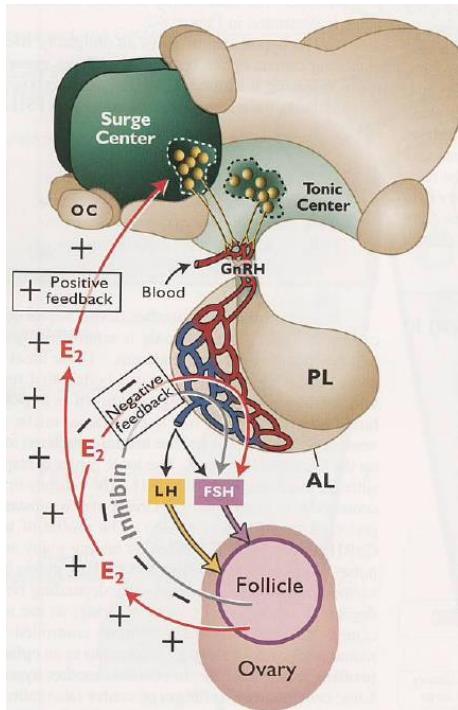
#### 2.1.1 Potek pojatvenega ciklusa

Pojatveni ciklus traja 21 dni in je sestavljen iz folikularne in luteinske faze.

##### 2.1.1.1 Folikularna faza

Folikularna faza traja 20 % pojatvenega ciklusa. V njej se odvijata proestrus in estrus (pojatev). Proestrus se začne po luteolizi, ko ni več negativne povratne zveze progesterona in se zato iz hipotalamusa sproščajo večje količine gonadotropin sproščajočega hormona (GnRH). GnRH vpliva na prednji reženj hipofize, ki izloča vedno več folikel stimulirajočega hormona (FSH) in luteinizirajočega hormona (LH). Oba stimulirata rast foliklov na jajčniku. Folikli s svojo rastjo producirajo vedno večje količine estrogenov in inhibina, ki preko negativne povratne zveze vplivajo na zmanjšanje izločanja FSH iz hipofize. Estrus se začne, ko estrogeni v krvi presežejo t. i. mejno koncentracijo in tako preko pozitivne povratne zveze delujejo na preovulatorni center hipotalamusa, ki v kratkem času izloči veliko količino GnRH. Ta stimulira hipofizo k izločanju velikih količin LH, kar imenujemo preovulatorni LH val. Preovulatorni LH val je potreben za začetek serij biokemijskih reakcij, ki vodijo v ovulacijo (slika 1) (Senger, 2005a).

V folikularni fazi so torej prevladujoči hormoni estrogeni, ki vplivajo na reproduktivni trakt, pripravijo žival na kopulacijo in kontrolirajo nastanek preovulatornega vala LH. V tej fazi je koncentracija progesterona nizka (Senger, 2005a).



Slika 1: Regulacija hormonov (Senger, 2005a)

Figure 1: Hormone regulation (Senger, 2005a)

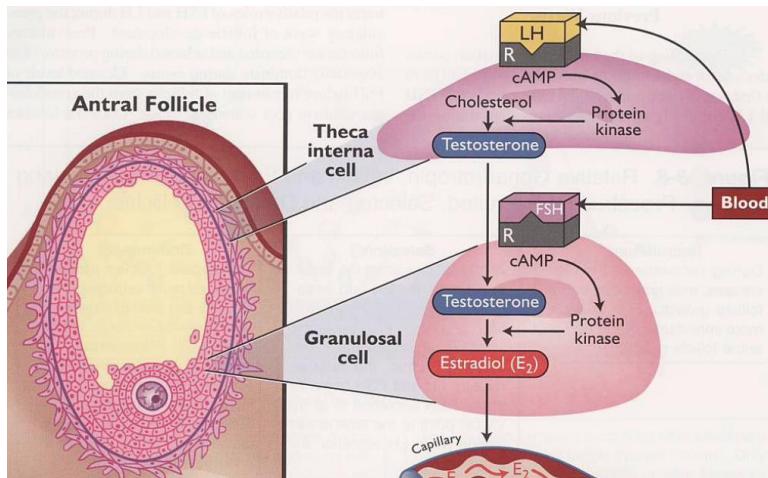
Legenda: Surge Center – preovulatorni center hipotalamus; Tonic Center – tonični center hipotalamus; GnRH – gonadotropin sproščajoči hormon; PL – posteriorni reženj hipofize; AL – anteriorni reženj hipofize; LH – luteinizirajoči hormon; FSH – folikel stimulirajoči hormon; Follicle – folikel; Ovary – jajčnik; Inhibin – inhibin  $E_2$  – estrogeni; Blood – kri, Positive feedback – pozitivna povratna zveza; Negative feedback – negativna povratna zveza; OC – optična hizazma.

#### 2.1.1.1 Sinteza in funkcija estrogenov

Za sintezo estrogenov so odgovorne celice *thece interne* in celice *granulose* razvijajočega se folikla.

Na membrani celic *thece interne* so specifični receptorji za LH. Ob vezavi LH na receptor LH se sproži zaporedje encimskih reakcij, v katerih preko holesterola nastane testosteron. Testosteron iz celic *thece interne* difundira v celice *granulose*.

Na celicah *granulose* so receptorji za FSH. Ob vezavi FSH na FSH receptor potečejo encimske reakcije, ki iz testosterona sintetizirajo estradiol (slika 2) (Senger, 2005a).



Slika 2: Sinteza estradiola (Senger, 2005a)  
Figure 2: Synthesis of estradiol (Senger, 2005a)

Legenda: LH – luteinizirajoči hormon; R – receptor za LH; Protein kinase – protein kinaza; Blood – kri; FSH – folikel stimulirajoči hormon; testosterone – testosteron; granulosal cell – celica *granulose*; theca interna cell – celica *thece interne*; Antral Follicle – antralni folikel; capillary – kapilara.

Primarna tarča delovanja estrogenov so tkiva reprodukcijskega sistema. Njihovo delovanje je sledeče (Senger, 2005a):

- omogočajo povečan pretok krvi skozi reproduktivne organe (prihod levkocitov in edem genitalij),
- spremenijo električno prevodnost sluznice,
- povzročijo lokalno levkocitozo (v reproduktivnih organih),
- spodbudijo rast endometrialnih žlez,
- povečajo delovanje cilij ovidukta,
- povečajo tonus miometrija,
- spodbujajo produkcijo sluzi v vagini in cerviku (deluje kot lubrikant, ki spira tuj material iz reproduktivnega trakta),
- vplivajo na obnašanje živali.

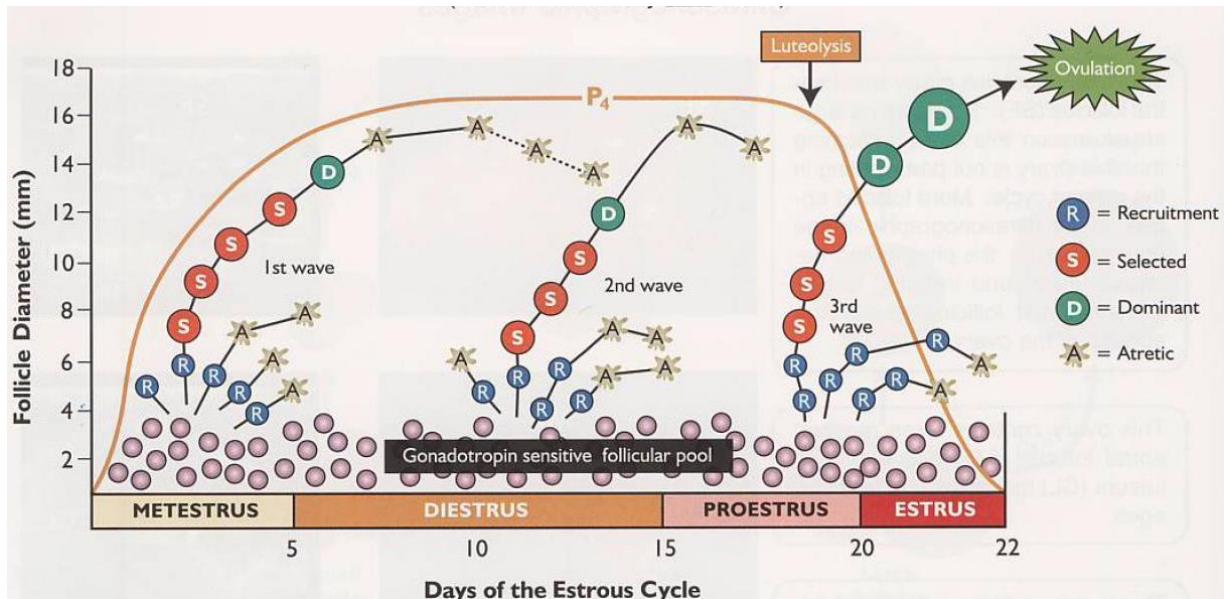
#### 2.1.1.1.2 Razvoj foliklov in priprava na ovulacijo

Razvoj foliklov poteka preko celega pojatvenega ciklusa (na jajčniku ne glede na fazo ciklusa vedno najdemo male, srednje in velike antralne folikle). Poteka tudi v času pubertete, anestrije in brejosti, a v teh primerih nikoli ne pride do razvoja preovulatornega folikla.

V posameznem pojatvenem ciklusu si sledijo dva ali trije zaporedni folikularni valovi, v katerih se ponavljajo naslednji procesi: rekrutacija kohorte foliklov, selekcija, dominanca in atrezija foliklov.

**V fazi rekrutacije** skupina majhnih antralnih foliklov začne rasti in producirati estradiol in manjše količine inhibina. Nekaj rekrutiranih foliklov zaradi slabše prekrvavitve in s tem tudi manjše oskrbe s FSH **atrezira** (degenerira). Tisti, ki ne atrezirajo, gredo **v fazo selekcije**. V tej fazi nekaj foliklov spet atrezira, eden od njih pa ne atrezira in se preoblikuje v **dominantni** folikel, ki proizvaja še večje količine estradiola in inhibina (Senger, 2005a).

Prva rekrutacija foliklov se zgodi po koncu metestrusa. Ti folikli atrezirajo zaradi povišane koncentracije progesterona in posledično nizke koncentracije FSH in LH v krvi. V času diestrusa pride še do enega vala rekrutacije foliklov, ki prav tako zaradi neugodnih endokrinih razmer atrezirajo. V času luteolize pride do tretjega (oz. v nekaterih primerih drugega) vala rekrutacije foliklov. Ker je koncentracija progesterona znižana, se nekaj foliklov seleкционira in nato (običajno) eden od njih – tisti, ki za svojo rast potrebuje manjše koncentracije FSH kot ostali – dominira (postane dominantni folikel). Dominantni folikel nato postane preovulatorni folikel, izloča vedno večje količine estradiola, ki v določeni točki presežejo mejno koncentracijo preovulatornega centra v hipotalamusu. Ta koncentracija preovulatornega centra je potrebna za sprostitev velike količine GnRH, ki stimulira hipofizo k izločitvi velikih količin LH (preovulatorni LH val). Ko se to zgodi, preovulatorni folikel preneha s sintezo estradiola (slika 3) (Senger, 2005a).



Slika 3: Dinamika foliklov (Senger, 2005a)  
Figure 3: Follicular dynamic (Senger, 2005a)

Legenda: 1st wave – prvi val; 2nd wave – drugi val; 3rd wave – tretji val; R – rekrutiran folikel; A – atreziran folikel; S – selekcioniran folikel; D – dominantni folikel; P<sub>4</sub> – progesteron; Luteolysis – luteoliza; Ovulation – ovulacija, Gonadotropin sensitive follicular pool – folikli, občutljivi na delovanje GnRH.

#### 2.1.1.1.3 Ovulacija

Ovulacija je kompleksen proces, katerega cilj je razgradnja folikularnega tkiva in sprostitev jajčne celice (Senger, 2005b). Zgodi se v času od 24 do 32 ur po začetku preovulatornega vala LH, ki navadno traja 7–8 ur (Ball in Peters, 2004). Procesi, ki omogočijo ovulacijo, so povečan dotok krvi v jajčnik in dominantni folikel, izločanje prostaglandina F<sub>2α</sub> (PGF<sub>2α</sub>) ter izdelovanje estrogenov (Senger, 2005b).

#### 2.1.1.2 Lutealna faza

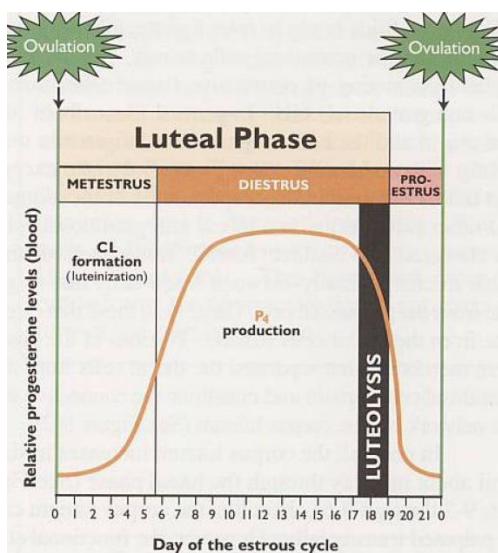
Lutealna faza traja od ovulacije folikla do luteolize rumenega telesa in predstavlja 80 % pojatvenega ciklusa. Zajema metestrus in diestrus. Dominantni hormon je progesteron P4 (slika 4) (Senger, 2005b).

### 2.1.1.2.1 Luteinizacija folikla

Luteinizacija je proces, v katerem se celice ovuliranega folikla (celice *thece interne* in celice *granulose*) ob prisotnosti LH spremenijo v luteinsko tkivo.

Prvi do tretji dan pojatvenega ciklusa je prisotno rdeče telo (*corpus haemorrhagicum*), ki nastane zaradi rupture žil ob ovulaciji. Zaradi encima plazmina se rdeče telo preoblikuje v rumeno (*corpus luteum*), ki je sestavljen iz velikih in malih luteinskih celic. Velike luteinske celice nastanejo iz celic *granulose*, male luteinske celice pa iz celic *thece interne*. Tako po ovulaciji se obe vrsti celic pomešata med nagubano steno folikla, saj bazalna membrana tik pred ovulacijo folikla delno propade in tako ne razmejuje več obeh tipov celic. Rumeno telo raste do polovice lutealne faze, in sicer na račun hipertrofije velikih luteinskih celic ter hiperplazije malih luteinskih celic (Senger, 2005b).

V velikih luteinskih celicah so sekretorne granule, ki v primeru cikličnega rumenega telesa vsebujejo oksitocin, v primeru gravidnega rumenega telesa pa relaksin. Male luteinske celice vsebujejo lipidne kaplje. Tako male kot velike luteinske celice proizvajajo progesteron (Senger, 2005b).



Slika 4: Gibanje koncentracije progesterona skozi pojatveni cikel (Senger, 2005b)  
Figure 4: Progesterone concentration during estrus cycle (Senger, 2005b)

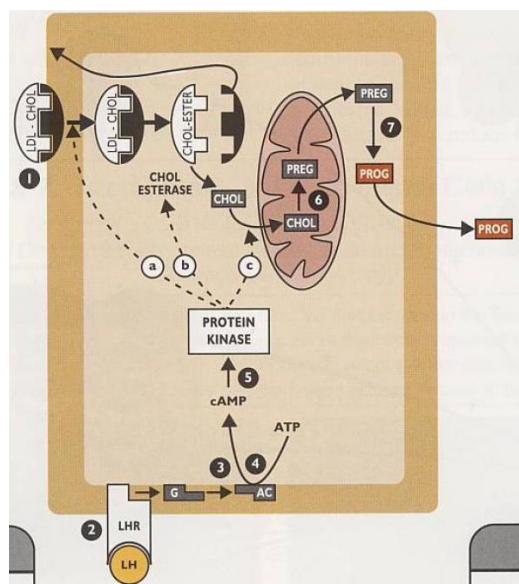
Legenda: Ovulation – ovulacija; Luteal Phase – lutealna faza, P<sub>4</sub> – progesteron; CL formation – izdelava rumenega telesa.

### 2.1.1.2.2 Sinteza in funkcije progesterona

Progesteron sintetizirajo velike in male lutealne celice. Funkcionalna kapaciteta sinteze progesterona je odvisna od števila luteinskih celic in od vaskularizacije rumenega telesa, ki je odvisna od količine angiogenih dejavnikov v folikularni tekočini. Pogoja za sintezo progesterona sta prisotnost holesterola in bazalna koncentracija LH (Senger, 2005b).

Postopek sinteze progesterona je predstavljen na sliki 5 in je sledeč: LH se veže na specifičen LH receptor (LHR) na membrani in s tem aktivira G-protein, ta pa adenilat ciklazo (AC), ki katalizira pretvorbo ATP v cAMP (sekundarni prenašalec). CAMP aktivira protein kinazo A. Protein kinaza A ima 3 funkcije (Senger, 2005b):

- pospešuje prehod kompleksa LDL-holesterol-receptor v celico: Kompleks holesterol-LDL (*low density lipoprotein*) se veže na specifičen receptor na membrani luteinske celice ter vstopi v celico, v kateri se razgradi na holesterol ester in LDL. Podenota LDL se izloči iz celice in se s tem reciklira.
- aktivira holesterol esterazo: Holesterol esteraza katalizira reakcijo, v kateri iz holesterol estra nastane holesterol.
- katalizira prehajanje holesterola v mitohondrije: Encimi v mitohondriju holesterol spremenijo v pregnenolon.



Slika 5: Sinteza progesterona (Senger, 2005b)  
Figure 5: Progesterone synthesis (Senger, 2005b)

Legenda: LDL-CHOL – holesterol, vezan na lipoprotein visoke gostote; CHOL – holesterol; PREG – pregnenolon; PROG – progesteron; CHOL ESTERASE – holesterol esteraza; AC – adenilat ciklaza; LH – luteinizirajči hormon; LHR – receptor za LH; G – G-protein.

Pregnenolon prehaja v citoplazmo, kjer ga encimi pretvorijo v progesteron. Nato gre v krvni obtok in s tem do naslednjih ciljnih tkiv (Senger, 2005b):

- hipotalamus, v katerem preko negativne povratne zveze vpliva na zmanjšanje frekvence izločanja bazalnih količin GnRH iz toničnega centra hipotalamus; to vpliva na amplitudo LH valov in izločanje le bazalnih količin FSH, ki omogočajo le razvoj neovulatornih foliklov;
- maternice, kjer zmanjša gibanje miometrija ter omogoči maksimalno izločanje endometrialnih žlez, katerih izloček omogoča preživetje zarodka;
- mlečne žleze, kjer omogoča dokončen razvoj mlečne žleze pred telitvijo in s tem omogoči začetek laktacije.

#### 2.1.1.2.3 *Luteoliza*

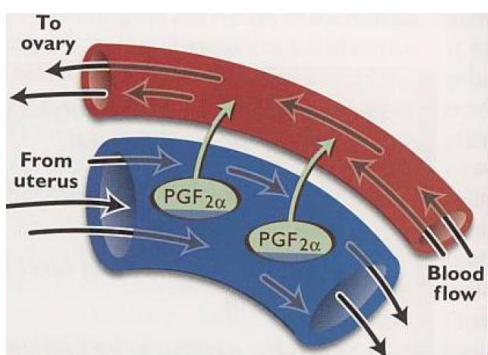
Luteoliza je dezintegracija ali liza rumenega telesa, ki se zgodi v zadnjih 1–3 dnevih lutealne faze (17.–19. dan pojavvenega ciklusa) v primeru, ko ne pride do brejosti (Miyamoto in Shirasuna, 2009). Glavna hormona, ki sodelujeta pri luteolizi, sta oksitocin (izvira iz rumenega telesa in hipofize) ter PGF<sub>2α</sub> (izvira iz endometrija) (Senger, 2005b).

Maternica v prvi polovici luteinske faze skoraj ne proizvaja PGF<sub>2α</sub>. Kaj sproži izločanje PGF<sub>2α</sub>, še ni popolnoma jasno. Prva teorija je, da mora biti maternica nekaj dni izpostavljena visokim koncentracijam progesterona, da lahko začne sintetizirati in sproščati PGF<sub>2α</sub>. Druga teorija pa je, da v prvi polovici pojavitvenega ciklusa progesteron preprečuje nastanek oksitocinskih receptorjev v maternici, kar preprečuje sintezo in izločanje PGF<sub>2α</sub>, toda po 10–12 dneh to zmožnost izgubi (Senger, 2005b).

V drugi polovici ciklusa se PGF<sub>2α</sub> pulsativno izloča iz endotelija maternice. Do jajčnika pride preko lokalne izmenjave med utero-ovarialno veno in ovarialno arterijo (slika 6). Ker ima PGF<sub>2α</sub> nizko molekularno maso in je v visoki koncentraciji prisoten v utero-ovarialni veni, lahko pasivno prehaja v ovarialno arterijo, kjer je njegova koncentracija nizka, in po njej naprej v jajčnik. Ta sistem omogoča, da PGF<sub>2α</sub> pride v jajčnik, ne da bi šel v sistemsko cirkulacijo

(Senger, 2005b). V kapilarah na periferiji luteinskega tkiva le-ta aktivira sintetazo dušikovega oksida (NO), ki je vazodilatator, in nastajanje liganda apelina, ki preko G-proteinskega receptorja vpliva na izločanje NO. Zaradi povišane koncentracije NO pride do vazodilatacije žil in akutno povečanega pretoka krvi v površini luteinskega tkiva. Začne se zaporedje procesov luteolize. Pride do medsebojne pozitivne povratne zveze med oksitocinom in PGF<sub>2α</sub> iz endometrija. Oksitocin naj bi reguliral amplitudo pulzov izločenega PGF<sub>2α</sub> (Miyamoto in Shirasuna, 2009). PGF<sub>2α</sub> se veže na receptorje na velikih luteinskih celicah. Vanje vdre kalcij, kar vodi v apoptozo celic. Apoptizo celic bi lahko povzročili tudi citokini, ki jih izločajo makrofagi in limfociti.

V procesu luteolize se koncentracija progesterona zelo zniža in preko negativne povratne zanke ne vpliva več na hipotalamus. Zato se iz hipotalamusa izločajo vedno več GnRH v valovih, kar omogoča, da se dominantni folikel na jajčniku preobrazi v preovulatorni folikel in ponovno pride do ovulacije (Senger, 2005b).



Slika 6: Protitočni sistem izmenjave PGF<sub>2α</sub> iz utero-ovarialne vene v ovarialno arterijo (Senger, 2005b)  
Figure 6: Counter-current exchange of PGF<sub>2α</sub> from utero-ovarian vein to ovarian artery (Senger, 2005b)

Legenda: From uterus – iz maternice; to ovary – v jajčnik; PGF<sub>2α</sub> – prostaglandin F<sub>2α</sub>; blood flow – tok krvi.

### 2.1.2 Metode za ugotavljanje faze pojatvenega ciklusa

Fazo pojatvenega ciklusa najlažje določimo takrat, ko je krava v estrusu (pojatvi). Tipični znaki estrusa so povečana fizična aktivnost, oglašanje, dvigovanje repa, vzpenjanje po drugih živalih in dovoljevanje zaskoka (Senger, 2005a).

V primeru patoloških dogajanj je za ugotavljanje faze pojatvenega ciklusa in patoloških dogajanj najbolj uporaben ultrazvočni (UZ) pregled rodil (Šlamberger Kranjc, 2014).

### 2.1.2.1 Opazovanje obnašanja

Opazovanje obnašanja je najbolj pogosto uporabljena in nezamenljiva metoda za odkrivanje estrusa (pojatve) (Šlamberger Kranjc, 2014). Priporočeno je, da živali opazujemo 4 do 5-krat na dan. Posamezno opazovanje ne sme biti v času molže ali hranjenja in naj traja več kot 20 minut. Za dobre rezultate mora biti opazovalec vešč opazovanja in veden pri zapisovanju opažanj (Ball in Peters, 2004).

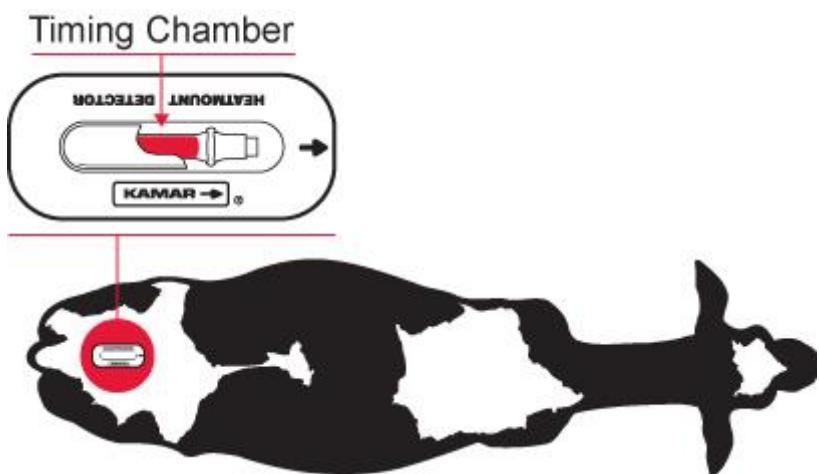
Pri opazovanju obnašanja si lahko pomagamo s kamero. Celodnevni posnetek lahko pregledamo v 1 uri, toda identifikacija posameznih živali s posnetka je lahko težavna (Šlamberger Kranjc, 2014)

Opazujemo naslednje spremembe v obnašanju (Ball in Peters, 2004):

- dovolitev zaskoka biku ali drugi kravi,
- zaskakovanje drugih krav,
- nenehno lizanje in ovohavanje drugih živali,
- nemir, nervozno, razdražljivo in agresivno obnašanje,
- poškodovana ali izpadla dlaka na področju korena repa,
- sluzast izcedek iz vulve,
- oglašanje.

Pri odkrivanju sprememb obnašanja v času pojatve lahko uporabljamo tudi naslednje pripomočke (Ball in Peters, 2004):

- detektorje zaskoka, ki se pritrdijo na ledveno področje. V primeru zaskakovanja s strani drugih krav spremenijo barvo (slika 7).
- voščenke, krede ali druge barve, ki se nanesejo na koren repa. Ob zaskoku se barva izbriše.
- marker, ki se pritrdi na brado bika ali androgenizirane telice. Ob zaskokovanju krav v estrusu na njih pusti barvo.



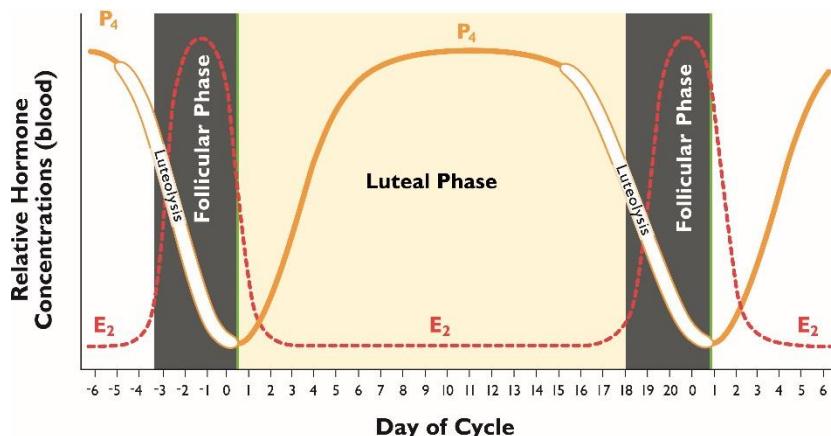
Slika 7: Detektor zaskoka (<http://www.kamarinc.com/>, 30.10.2018)  
Figure 7: Mount detector (<http://www.kamarinc.com/>, 30.10.2018)

#### 2.1.2.2 Aktivnost živali

Živali so v času estrusa nemirne, pri njih je opazna precej večja aktivnost na dan estrusa kot na katerikoli drug dan. Uporabna metoda za ugotavljanje aktivnosti živali je štetje korakov z napravo (pedometrom), ki je nameščena na vrat ali nogo. Nožni pedometri so natančnejši od vratnih. Povečanje aktivnosti v estrusu se v prosti reji ugotovi pri 93 % krav v estrusu, v vezani reji pa le pri 14–20 % krav v estrusu, torej je metoda primerna predvsem za prosto rejo (Šlamberger Kranjc, 2014).

#### 2.1.2.3 Progesteronski test

V proestrusu in estrusu je koncentracija progesterona nizka (pod 3 ng/ml). Na jajčniku se od ovulacije (1. dan ciklusa) do 10. dne razvija rumeno telo, ki proizvaja progesteron, zato se koncentracija progesterona v krvi zvišuje (nad 10 ng/ml) (Šlamberger Kranjc, 2014). 18. dan ciklusa pride do luteolize in posledično do znižanja koncentracije progesterona ter ponovitve ciklusa (slika 8) (O'Connor, 2016).



Slika 8: Koncentracija estrogena (E2) in progesterona (P4) skozi pojatveni cikel (Senger, 2005b)  
Figure 8: Concentration of oestrogen (E2) and progesterone (P4) during oestrous cycle (Senger, 2005b)

Legenda: E<sub>2</sub> – estrogeni; P<sub>4</sub> – progesteron; luteal phase – luteinska faza; follicular phase – folikularna faza; Luteolysis – luteoliza.

Raven progesterona lahko merimo v krvi ali mleku (Šlamberger Kranjc, 2014). Koncentracija progesterona je enaka v krvnem serumu in mleku (metode merjenja: *Solid-phase enzyme immunoassay* (SPEIA), *Direct enzyme immunoassay* (DEIA), *Radioimmunoassay* (RIA)). Ob primerjavi visokih vrednosti progesterona, merjenih z metodo RIA, so ugotovili, da je koncentracija progesterona višja v polnomastnem kot v posnetem mleku (Colazo in sod., 2008). V drugi raziskavi so ugotovili, da so vrednosti progesterona pri merjenju z RIA višje v mleku (21,2 ng/ml) kot v krvni plazmi (5,4 ng/ml) (Ginther in sod., 1974).

Za merjenje koncentracije progesterona v mleku so na voljo laboratorijske metode in hitri testi. Hitre teste lahko uporabljamo tudi na terenu, vzamejo zelo malo časa, so preprosti in nam dajo grobo informacijo o stanju na jajčnikih. Ti testi ne merijo točne koncentracije progesterona, ampak nam le povedo, ali je koncentracija progesterona nizka ali visoka (Nebel, 1988). V laboratoriju lahko progesteron izmerimo v krvi ali mleku. Uporablja se lahko zelo natančen radioimunski test (*very precise radioimmunoassay*), progesteronski encimsko imunski test (*progesterone enzyme immunoassay*) (O'Connor, 2016) ter v sodobnem času encimsko imunski test s fluorescenčno detekcijo (*Enzyme linked fluorescent assay, ELFA*).

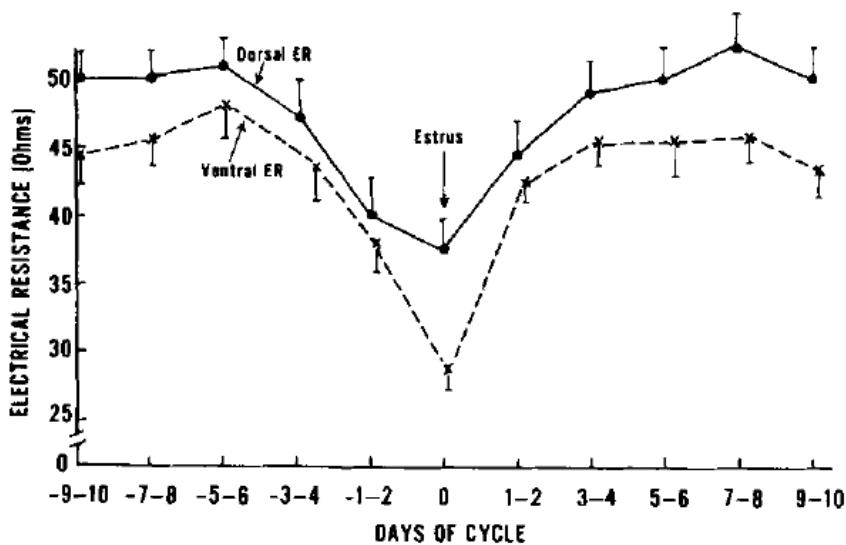
#### 2.1.2.4 Električna upornost vaginalne sluzi

Visoka koncentracija estrogenov v času estrusa poveča izločanje andrenokortikotropnega hormona (ACTH) in aldosterona, ki med drugim vplivata tudi na zvišanje vrednosti NaCl v vaginalni sluzi. Višja koncentracija NaCl v vaginalni sluzi med estrusom pomeni manjšo električno upornost le-te v primerjavi z ostalimi fazami ciklusa (slika 10). Električno upornost se enostavno meri s t. i. detektorji estrusa (*oestrous detectors*) (slika 9) (Ahmed in sod., 2017).



Slika 9: Detektor estrusa, ki meri električno upornost vaginalne sluzi (<https://www.draminski.com/agri/estrous-detectors/draminski-estrous-detector-for-cows-and-mares/>, 30.10.2018)

Figure 9: Oestrous detector, which measures electrical resistance of vaginal mucus (<https://www.draminski.com/agri/estrous-detectors/draminski-estrous-detector-for-cows-and-mares/>, 30.10.2018)



Slika 10: Spreminjanje električne upornosti vaginalne sluzi skozi pojatveni ciklus (Heckman in sod., 1979)  
Figure 10: Dynamics of electrical resistance of vaginal mucus during oestrous cycle (Heckman et al., 1979)

Metoda je z vidika praktične uporabe dokaj zapletena in zamudna; poleg tega se tudi poveča možnost za lokalna vnetja in prenos bolezni. Možni so lažno pozitivni rezultati v primerih prisotnosti cist ali ulceroznih vnetij (Šlamberger Kranjc, 2014).

#### 2.1.2.5 Pregled rodil z ultrazvokom

Ultrasonografija je neinvazivna, hitra, ekonomična in enostavna diagnostična metoda, ki ne predstavlja nobene nevarnosti za preiskovano žival. Zahteva poznavanje anatomije in klinične izkušnje pregledovalca pri diagnostiki patoloških sprememb organov (Mrkun, 2007).

Z ultrazvočno preiskavo rodil lahko diagnosticiramo morebitno patologijo maternice in jajčnikov in ocenimo, ali ima pravilen pojatveni ciklus (je ciklična). Preiskava nam omogoča tudi zgodnje odkrivanje nebrejih živali, odkrivanje dvojčkov in embrionalne smrtnosti, spremljanje odziva na terapijo ali sinhronizacijo ciklusa, odkrivanje patologije rodil kmalu po telitvi, potrjevanje brejosti in pregled plodu (Colazo in sod., 2010).

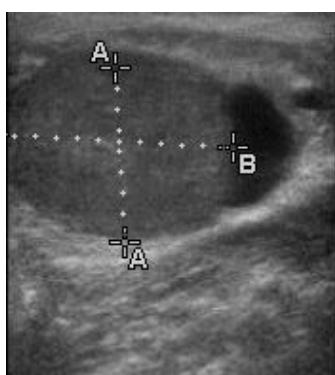
Za pregled rodil se uporablja linearna B-mode 5 MHz sonda (5 000 000 ultrazvočnih valov na sekundo), ki penetrira le nekaj centimetrov v globino in ima visoko ločljivost. Ultrazvočni valovi nižjih frekvenc penetrirajo globlje v tkivo, a imajo slabšo ločljivost (Mrkun, 2007).

Osnovni način delovanja ultrazvočnega diagnostičnega aparata je oddajanje ultrazvoka in sprejemanje odbitih valov, s pomočjo katerih nastaja slika opazovanih struktur. Ehoskop s pomočjo sonde emitira kratke impulze ultrazvoka visoke frekvence v notranjost. Po emitaciji impulzov aparat čaka na odboje iz notranjosti telesa in jih z isto sondou zbira. Iz zbranih podatkov se oblikuje dvodimensionalna slika preseka notranjosti organa. Sprejeti odboji se prikazujejo kot svetle točke na ekranu (Mrkun, 2007). Strukture, napolnjene s tekočino (npr. folikli), ne odbijajo ultrazvočnih valov, zato so na ekranu prikazane kot črne (neehogene) točke. Gosta tkiva (npr. kosti) odbijajo ultrazvočne valove, zato so na ekranu prikazane kot bele (hiperehogene) točke. Ostala tkiva različno odbijajo ultrazvočne valove, ki so na ekranu vidne kot točke različnih odtenkov sive barve (Colazo in sod., 2010).

Pri UZ preiskavi maternice lahko opazimo intrauterino tekočino, ki je v manjši količini fiziološka v času proestrusa in estrusa ter patološka v diestrusu. Intrauterina tekočina z ehogenimi ali hiperehogenimi delci je običajno patogena. Pri UZ preiskavi ovarijev lahko

vidimo folikle večje od 3-4 mm, rumeno telo ter luteinske in folikularne ciste (slika 11). S pomočjo podatkov morfologije maternice, števila in velikosti foliklov ter prisotnosti in videza CL lahko določimo fazo pojatvenega ciklusa (Colazo in sod., 2010).

Pri interpretaciji UZ slike lahko pride do objektivnih in subjektivnih napak. Objektivne napake so akustični artefakti (nastanejo zaradi narave ultrazvoka) in redkeje netočne interpretacije zaradi nečistosti ojačanih električnih signalov v aparatu. Subjektivne napake se zgodijo zaradi optične prevare, napake v zaznavanju in zaradi zamenjave posameznih anatomskeih struktur z drugimi (Mrkun, 2007).



Slika 11: Ultrazvočni prikaz jajčnika z rumenim telesom (levo) in foliklom (desno) (Foto: Mrkun, osebni arhiv)  
Figure 11: Ultrasound photo of ovary with corpus luteum (left) and follicle (right) (Photo: Mrkun, personal archive)

## 2.2 POPORODNO OBDOBJE

Poporodno obdobje ali puerperij (*puerperium*) se začne takoj po telitvi in traja do prvega estrusa, v katerem je krava sposobna oploditve (Hafez, 1993). V tem obdobju pride do involucije rodil, obnove strukture endometrija in globljih slojev maternice, odstranitve bakterij iz lumna maternice, vzpostavitev ciklične aktivnosti jajčnikov ter začetka laktacije (Tomašković in sod., 2007a).

### 2.2.1 Involucija rodil

Celoten proces involucije vključuje zmanjšanje maternice in obnovo endometrija, prenehanje hiperemije in edema sluznice rodil ter skrajšanje medenično-križničnih vezi. Do

najintenzivnejših sprememb pride v prvih dneh po telitvi; med 4. in 9. dnem pa se proces postopoma upočasni. Miofibrile miometrija se skrčijo in atrofirajo (Podpečan, 2005), v nekaj dneh se njihova velikost zmanjša s 700 µm na 200 µm (Senger, 2005c). Kontrakcije miometrija pripomorejo tudi k lažjemu odstranjevanju ostankov tkiva in tekočine iz maternice. Involucija maternice je pri kravah zaključena med 40. in 50. dnem po telitvi (Tomašković in sod., 2007a).

V prvem tednu po telitvi se pojavi maternični izcedek ali lohije (*lochia*), ki je sestavljen iz sluzi, krvi, plodnih tekočin, ostankov posteljice in materničnega tkiva (Hafez, 1993). Izcedek je običajno rumenorjave barve, njegova količina se giblje med 500 in 2000 ml. Največ izcedka je 2. do 3. dan po telitvi, do 8. dne se njegova količina zmanjšuje in preneha z izločanjem 14. do 18. dan po telitvi. Drugi dan po telitvi pride do degenerativnih sprememb in nekroze površinskih slojev. Nekrotično tkivo karunklov postopno macerira. Pod nekrotično maso so arteriole, ki lahko zakrvavijo, kar privede do rdečega obarvanja lohij (Senger, 2005c).

Pomembno vlogo v regulaciji involucije imajo prostaglandini in njihov vpliv na povišanje tonusa maternice v poporodnem obdobju. Njihova koncentracija raste do 3. dne po telitvi, ko doseže najvišjo vrednost, in se spusti na bazalno raven do 15. dne (Tomašković in sod., 2007a). Ponovna aktivnost jajčnikov po telitvi se ne pojavi, dokler prostaglandini ne dosežejo bazalne ravni (Podpečan, 2005).

Na involucijo maternice zaviralo vpliva tudi hipokalcemija. Hipokalcemija se pojavi po telitvi, ker se potrebe po kalciju enormno povečajo (krave v prvih 24 urah v 10 litrih kolostruma lahko izločijo do 23 g kalcija, v krvi pa ga je samo 3 g). V blažjih (subkliničnih) oblikah hipokalcemija vpliva na slabši tonus prečnoprogaste in gladke mišičnine, zato je večja verjetnost, da pride do izpada maternice, zaostale posteljice, slabše involucije maternice, endometritisa, mastitisa in zmanjšane motorike prebavil (Goff, 2003). Zaradi slabše motorike prebavil se zmanjša zauživanje suhe snovi, kar poslabša NEB in lahko vodi tudi v ketozo ali v sindrom zamaščenih jeter. Povečana koncentracija ketonskih teles in neestraficiranih maščobnih kislin (NEFA) v krvi še dodatno zmanjšuje apetit (Grummer in sod., 2004).

## 2.2.2 Vzpostavitev ciklusa po telitvi

Vzpostavitev normalne reprodukcijske aktivnosti temelji na medsebojnem delovanju hipotalamus, hipofize, jajčnikov in maternice (Podpečan, 2005). Jajčniki hitro po telitvi kažejo

zname ciklične aktivnosti. Hipofiza do 6. dne po telitvi ne more izločiti zadostne količine LH, po 10. dnevu pa začne izločati količine, ki so značilne za normalni ciklus. FSH se izloča hitro po telitvi. Do prve ovulacije večinoma pride brez predhodnih znakov pojatve, saj je koncentracija progesterona povišana krajši čas kot pri običajnem pojatvenem ciklusu (Tomašković in sod., 2007a).

Antralni folikli rastejo v valovih, vsak val je stimuliran s prehodnim povečanjem koncentracije FSH v krvi. Ko doseže vrh izločanja, ob velikosti foliklov od 4 do 8,5 mm, se nivo FSH v krvi zmanjšuje. Rezultat folikularne rasti je razvoj prvega dominantnega folikla 11. dan po telitvi (Tomašković in sod., 2007a; Podpečan, 2005). Dominanten folikel nadaljuje svojo rast, medtem ko ostali folikli ne rastejo več. Prva dva tedna po telitvi se povečuje tudi frekvenca izločanja LH. Izločanje LH je zmanjšano pri kravah z izrazito NEB in pri hipoglikemičnih in visoko produktivnih kravah. Dominantni folikel se povečuje in sintetizira  $17\beta$ -estradiol, ki v pozitivni povratni zvezi preko GnRH deluje na izločanje LH (Tomašković in sod., 2007a).

Pomembno vlogo pri delovanju jajčnikov imata tudi inzulin in inzulinu podoben rastni hormon 1 (IGF-1). Glavni izvor IGF-1 so jetra, glavni regulator produkcije pa prehrana. IGF-1 stimulira proliferacijo in diferenciacijo celic *granulose*. Ob nizki koncentraciji inzulina in IGF-1 folikel ne sintetizira dovolj  $17\beta$ -estradiola in zato ne pride do zadostnega izločanja LH in ovulacije (Tomašković in sod., 2007a).

Na ponovno vzpostavitev ciklične aktivnosti jajčnika vplivajo tudi (Vercouteren, 2015):

- letni čas, v katerem krava teli (telitev v zimskem ali pomladanskem času pomeni kasnejšo vzpostavitev ciklusa),
- način reje (živali v vezani rejji kasneje vzpostavijo ciklus),
- zaporedna telitev (prvesnice kasneje vzpostavijo ciklus),
- trajanje presušitve (presušeno obdobje, ki traja več kot 76 dni, pomeni kasnejšo vzpostavitev ciklusa),
- presnovne motnje v poporodnem obdobju (Tomašković in sod.; 2007a). Vsaka krava pred, ob ali nekaj tednov po telitvi doživi krajše ali daljše obdobje odpornosti na inzulin, zmanjšanega zauživanja krme, NEB, lipolize, izgube telesne mase, hipokalcemije, imunosupresije in bakterijske kontaminacije maternice (metritis). Subklinična ketoza (beta-hidroksibutirat; BHB  $>1,2-1,4$  mmol/L) v prvem ali

drugem tednu po telitvi je povezana s povečanim tveganjem za razvoj dislokacije siriščnika, metritisa, klinične ketoze, endometritisa, podaljšane poporodne anestrije, povečane verjetnosti za pojav mastitisa in manjše produkcije mleka v zgodnji laktaciji (LeBlanc, 2010).

### **2.2.3 Reprodukcijski parametri**

#### **2.2.3.1 Servisni interval**

Servisni interval (SI) je obdobje med telitvijo in prvo osemenitvijo po telitvi. Za prvo osemenitev je pomembno, da je involucija rodil končana. Prva pojatev po telitvi se ponavadi pojavi med 25. in 35. dnem po telitvi. Prezgodnja osemenitev lahko zmanjša uspešnost osemenitve, prepozna pa podaljšuje poporodni premor. Priporočen normativ za prvo osemenitev je med 45. in 85. dnem po telitvi. Ta čas je odvisen od prehrane, proizvodnje ter zdravja živali in rodil (Pipan, 1991). Rejci se lahko ob visoki mlečnosti krav odločijo za podaljšanje tega obdobja (prostovoljna doba čakanja).

#### **2.2.3.2 Servisna perioda**

Servisna perioda (SP) je obdobje od prve do uspešne osemenitve. Na dolžino SP vplivajo uspešnost osemenitev, učinkovitost in zanesljivost odkrivanja pojatev, motnje v cikličnosti, zgodnja embrionalna smrtnost, trajanje SI, prehrana in kondicija krav (Pipan, 1991). Zaželjeno je, da je delež krav, ki imajo SP med 18 in 24 dnevi, največji (Mrkun, 2012).

#### **2.2.3.3 Poporodni premor**

Poporodni premor (PP) je obdobje od telitve do uspešne osemenitve. Sestavljen je iz SI in SP, zato vse motnje, ki podaljšujejo SI in SP, podaljšujejo tudi trajanje PP (Pipan, 1991). Optimalno naj bi to obdobje trajalo okrog 85 dni, da bi s tem dosegli želeno dobo med telitvama 365 dni (Podpečan, 2005).

#### 2.2.3.4 Doba med telitvama

Doba med telitvama (DMT) je obdobje poporodnega premora, ki mu prištejemo obdobje brejosti (Pipan, 1991).

#### 2.2.3.5 Indeks uspešnosti osemenitev

Indeks uspešnosti osemenitev (IUO) predstavlja razmerje med številom vseh osemenitev in številom brejih krav. Pove nam, koliko osemenitev je potrebnih za obrejitev živali (Podpečan, 2005).

#### 2.2.3.6 Non-return

Non-return je razmerje med številom prvič osemenjenih krav in številom krav, ki v določenem času niso bile ponovno osemenjene. Najpogosteje je izračunan za obdobje 60 dni, 60 do 90 dni in 90 dni (Pipan, 1991).

### 2.3 VPLIV PREHRANE IN PRESNOVNIH MOTENJ NA POJATVENI CIKLUS

Velik napredek v selekciji goveda je močno povečal genetski potencial za prirejo mleka. Pokrivanje tega potenciala s hranljivimi snovmi sodi med najzahtevnejše naloge v prehrani živali. Pri visokoproduktivnih kravah v obdobju po telitvi in na vrhuncu laktacije potrebe po hranljivih snoveh pogosto niso pokrite, kar se odraža predvsem na plodnosti in mlečnosti (Žgajnar, 1990). Deficitarna prehrana negativno vpliva na razvoj foliklov in ovulacijo ter vodi v kasnejšo vzpostavitev pravilnega pojatvenega ciklusa po telitvi (Tomašković in sod., 2007b).

#### 2.3.1 Oskrbljenost z vitaminimi in minerali

Neustrezna oskrba z minerali in vitaminimi negativno vpliva na zdravje, plodnost in produktivnost krav.

**Presežek kalija** v obroku povzroča plodnostne motnje (motnje v ciklusu, neredne pojatve, slabša oploditvena zmožnost ob prvi osemenitvi, ovarialne ciste, vnetne spremembe na vaginalni sluznici), obsežni edem vimena (Jazbec, 1990c), vpliva na pogostejše pojavljanje poporodne hipokalcemije in hipomagneziemične tetanije (zavira resorpcijo natrija in magnezija) (Suttle, 2010c). **Pomanjkanje natrija** povzroča slabšo ješčnost, plodnost in mlečnost krav, lizavost in dlako brez leska (Jazbec, 1990b). **Pomanjkanje kalcija** vodi v slabšo involucijo maternice, endometritis in slabšo konzumacijo krme (Jazbec, 1990a). **Pomanjkanje fosforja** se kaže kot slabši apetit, slabo izražene in neredne pojatve ter slabša oploditvena zmožnost (Suttle, 2010b). **Pomanjkanje magnezija** vpliva na slabšo ješčnost in večjo verjetnost za pojav poporodne hipokalcemije (Suttle, 2010a). **Pomanjkanje kobalta** je lahko vzrok za nepravilen pojatveni cikel, **pomanjkanje mangana** pa vodi v podaljšanje vzpostavitve ciklusa po telitvi (Šlamberger Kranjc, 2014).

Med vitaminimi je za reprodukcijo zelo pomemben **beta-karoten**, ki je prekurzor vitamina A in se nahaja v sveži krmi. Pretvorba v vitamin A se dogaja v jetrih in sluznici tankega črevesja. Skladišči se v obliki retinil palmitata pretežno v jetrih, nekaj pa tudi v maščobnem tkivu. Zaloge beta-karotenov zadoščajo za 2 do 4 dni, zato jih je potrebno dnevno nadomeščati (Žust in sod., 2009). Vitamin A je pomemben za diferenciacijo celic, normalno proliferacijo limfocitov, ohranjanje normalne strukture epitelija (kože, sluznice, žleze, mrežnica), rast tkiv, normalen razvoj ploda. Poleg tega pospešuje izločanje rastnega hormona, pri samcih pa je pomemben za kakovost semena (Stöber, 2006). Beta-karoten v organizmu deluje tudi kot antioksidant in pospešuje nastajanje progesterona (De Ondarza in sod., 2009). Pomanjkanje beta-karotena vpliva na slabšo plodnost krav in pogostejše pojavljanje endometritisov (Dirksen in sod., 2006).

### 2.3.2 Subklinična vampova acidoza

Subklinična vampova acidoza (SARA) je stanje, ko je pH v vampu nižji od fiziološkega (6,8–6,5), a ne tako nizek, da bi se pojavili klinični znaki. Nastane kot posledica krmljenja z velikimi količinami žit (lahkofermentirajočih ogljikovih hidratov), ki povzročijo daljša obdobja znižanja pH vrednosti vampa na 5,2 do 6. Posledice subklinične vampove acidoze so: zmanjšano dnevno zauživanje krme, slabša prebavljljivost krme, manjša mlečnost krav in delež maščob v mleku, poškodbe prebavnega sistema in jeter, pogostejše šepanje ter negativen vpliv na plodnost živali. Zmanjšanje vnosa suhe snovi (DMI) v času zgodnje laktacije in posledično pomanjkanje

energije vplivata na slabše dozorevanje prvega vala jajčnih celic po telitvi ter posledično kasnejši nastop prve pojatve (Abdela, 2016).

### 2.3.3 Negativna energijska bilanca

Stanje, ko krave niso sposobne zaužiti dovolj energije, da bi pokrile potrebe, imenujemo negativna energijska bilanca (NEB). Krave imajo ob koncu presušitve in na začetku laktacije slabšo sposobnost konzumacije suhe snovi (SS). V zadnjih tednih pred telitvijo se lahko zmanjša tudi do 30 %, v prvem tednu po telitvi pa krava lahko doseže le okrog 65 % maksimalne konzumacije, kar je premalo za pokritje vseh potreb (Mattos in sod., 2000).

Energijski status krav je definiran kot razlika neto vnosa energije in neto količine energije, potrebne za vzdrževanje in pritejo mleka (Mattos in sod., 2000). Ob premajhnem zaužitju energije za pokritje energijskih potreb živali kot vir energije uporabljajo telesne rezerve. V stanju negativne energijske bilance pride do sprememb v koncentraciji različnih presnovkov v krvi. Zviša se koncentracija nezaestrenih maščobnih kislin (NEFA) in BHB, znižajo pa se koncentracije glukoze, holesterola, sečnine (Podpečan, 2005), inzulina in IGF-1 (LeBlanc, 2010). Največje spremembe v koncentraciji NEFA se dogajajo 2 tedna pred telitvijo (LeBlanc, 2010). Te spremembe vplivajo na delovanje jajčnikov in posledično na plodnost živali (Dirandeh in sod., 2013). Podpečan (2005) ugotavlja, da imajo živali v izraziti NEB 11,3-krat večjo verjetnost za zapoznelo vzpostavitev ciklusa ali nezmožnost ovulacije, saj NEB negativno vpliva na delovanje jajčnikov zaradi slabšega razvoja foliklov (manjši premer dominantnih foliklov) (Mackey in sod., 1999). Manjši dominantni folikel proizvaja manj estradiola, kar zavira pulsatilno izločanje LH in zmanjša odzivnost ovarija na LH (Butler, 2001). Zaradi tega pride do izostanka ovulacije (Mackey in sod., 1999). Z določanjem BHB in NEFA v krvi ter oceno telesne kondicije lahko ocenimo stopnjo NEB, ki je pomemben dejavnik pri iskanju vzrokov za plodnostne motnje v zgodnjem poporodnem obdobju (Podpečan, 2005).

Krmljenje z zaščitenimi maščobami dvigne koncentracijo energije v obroku in tako potencialno zniža NEB (van Knegsel in sod., 2007). Če je dodanih nezaščitenih maščob v obroku več kot 50–60 g/kg SS, se lahko zmanjša ješčnost krav, kar pa poslabša stanje NEB (Schauff in Clark, 1992).

### 2.3.3.1 Presnova maščob skozi laktacijo

Ob ustreznih prehrani krava potrebno energijo dobi iz dnevno zaužite krme, mobilizacija zalog iz maščobnega tkiva pa je minimalna. Lipogeneza in lipoliza sta med brejostjo regulirani tako, da se povečajo maščobne rezerve, ki se koristijo za telitev in začetek laktacije (Sumner in McNamara, 2007). V obdobjih dolgotrajnega pomanjkanja energije (zgodnja laktacija) se spremeni izločanje hormonov in odziv tkiv nanje. Poveča se lipoliza in zmanjša lipogeneza (homeostaza), mobilizirajo se NEFA. V prvem mesecu po telitvi ne glede na energijski status pride do lipolize (Delaby in sod., 2009). To pomeni, da lipoliza v zgodnji laktaciji ni odvisna le od dostopnosti energije (homeostaza), temveč je v veliki meri kontrolirana z geni (homeoreza). Lipogeneza pa je kontrolirana z zauživanjem energije (homeostazo) (Roche in sod., 2009).

Pri kravah v zgodnji laktaciji se večina (>80 %) vse razpoložljive glukoze porabi v vimenu za tvorbo lakteze. Če ne bi bilo mehanizma sproščanja NEFA iz telesnih rezerv, ki je pomemben vir zagotavljanja energije, bi organi, ki ne morejo presnoviti maščobnih kislin kot vira energije (npr. možgani), ostali ostali brez energije. V tem primeru ti organi za vir energije uporabljajo ketonska telesa, ki nastanejo v procesu nepopolne beta oksidacije maščobnih kislin do ogljikovega dioksida, vode in ATP, in sicer v času NEB, ko je z namenom zagotavljanja zadostne količine energije povečana mobilizacija NEFA iz adipocitov (Herdt, 2000). NEFA se lahko presnovijo po treh poteh. Prva pot je, da gredo v jetrih v proces reestrififikacije, v katerem se ponovno formirajo triacilgliceridi, druga možnost je, da se v mlečni žlezi porabijo za tvorbo mlečne maščobe, tretja pa, da služijo kot vir energije (proces beta-oksidacije v mišicah in jetrih). Ob beta-oksidaciji maščobnih kislin pride do presežka acetil-CoA, ker se ne more pretvoriti v citronsko kislino zaradi pomanjkanja oksalacetata. Acetil-CoA jetrne celice pretvorijo v ketonska telesa (aceton, acetoacetat in BHB) (Drackley, 1999). Ta so v smislu zagotavljanja energije manj učinkovita od beta-oksidacije (Herdt, 2000). O ketozi govorimo, ko se koncentracija BHB v krvi zviša nad 1 mmol/l (Whitaker, 2000).

Maščobne kisline, ki se ne uporabijo v beta-oksidaciji, se v jetrih reestrifificirajo v triacilgliceride in gredo v krvni obtok kot lipoproteini zelo nizke gostote (VLDL; *very low density lipoproteins*). V času NEB se jetrna sposobnost za proces reestrififikacije maščobnih kislin poveča, čeprav se izločanje VLDL iz jeter ne poveča. To je najverjetneje posledica znižane

zmožnosti sinteze apoproteina B, ki naj bi kontroliral izločanje in sintezo VLDL. Zato pride v obdobju NEB, ko je povišan dotok NEFA v jetra in neučinkovit sistem izločanja maščobnih kislin iz jeter preko VLDL, do akumulacije trigliceridov v jetrih in nastanka sindroma zamaščenih jeter (*fatty liver disease*) (Roche in sod; 2009).

### **2.3.4 Telesna kondicija**

Ocena telesne kondicije (BCS) je enostavna metoda ovrednotenja prehranskega statusa krav molznic (Edmonson in sod., 1989). Omogoča nam vpogled v dogajanje v čredi v zvezi s prehrano, prirejo in z reprodukcijo (Podpečan, 2005). Kondicija v zgodnji laktaciji je povezana z incidenco presnovnih bolezni, med katerimi je najpomembnejša ketoza (Gillund in sod., 2001) pa tudi poporodna pareza (Roche in Berry, 2006), dislokacija siriščnika (Roche in sod., 2009) in sindrom zamaščenih jeter (Drackley, 1999). Zmanjšanje kondicije pred in po telitvi tudi poveča tveganje za infekcije maternice (Markusfeld in sod., 1997; Markusfeld, 1985).

#### **2.3.4.1 Ocena telesne kondicije**

Telesno kondicijo ocenjujemo z ocenami od 1 do 5, pri čemer zelo shujšana krava dobi oceno 1, zelo debela pa oceno 5 (Edmonson in sod., 1989). Ocenjujemo jo vizualno od zadaj in od strani ter z otipavanjem določenih delov telesa. Slabosti pri ocenjevanju kondicije so, da ocenjujemo le podkožno zalogo, ne pa inter in intramišičnih maščob ter abdominalnih maščob, ki predstavljajo 35–45 % telesnih maščob. Slabost je tudi ta, da pridemo do različnih ocen glede na to, ali kondicijo ocenjujemo s tipanjem ali opazovanjem ter to, da obstajajo različne lestvice ocenjevanja in pretvorbe med njimi, ki niso vedno točne (Roche in sod., 2009).

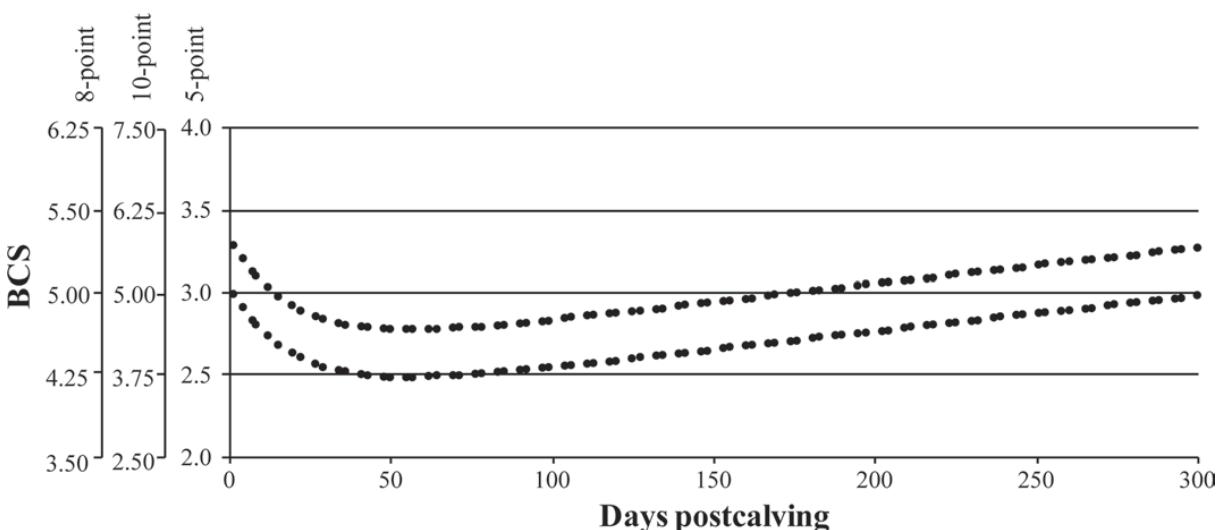
#### **2.3.4.2 Spreminjanje kondicije med laktacijo**

Kondicija ob telitvi vpliva na konzumacijo krme v zgodnji laktaciji, izgubo kondicije po telitvi, mlečnost, učinkovitost delovanja imunskega sistema in čas do ponovne oploditve (Roche in sod, 2009). Takoj po telitvi krave molznice ne pokrivajo energijskih potreb za prirejo mleka, torej so v NEB in zato črpajo telesne rezerve. S črpanjem rezerv se njihova kondicija zmanjšuje, vendar to zmanjšanje ne sme biti večje od 0,75 točke BCS (Orešnik in Kermauner, 2009a), na

ravni črede pa se v 30 dneh po telitvi ne sme zmanjšati za več kot 0,5 točke BCS (Ferguson, 2002). Različni avtorji so dokazali, da prehrana ne vpliva na velikost izgube kondicije v zgodnji laktaciji. Opisujejo, da je popolnoma naravno, da v zgodnji laktaciji krave shujšajo (zaradi homeoreze), česar z izboljšano prehrano ne moremo preprečiti (Roche in sod., 2009). Torej ne moremo vplivati na zmanjšanje kondicije po telitvi, temveč lahko vplivamo na kondicijo ob telitvi in genetiko.

Krave naj bi telile s kondicijo 3,00–3,25 BCS (slika 12). Krave, ki telijo v **slabši kondiciji** (pod 3,00 BCS), dosežejo manjšo mlečnost, bolj verjetno imajo daljši poporodni anestrusni interval, imajo manjšo verjetnost obrejitve (Roche in sod., 2009) in večjo verjetnost za retencijo placente. Krave, ki se jim kondicija v dobi presušenosti slabša, bodo bolj verjetno izločene in bolj verjetno bodo imele zaostalo placento (Markusfeld in sod., 1997).

Krave, ki telijo v **predobri kondiciji** (nad 3,25 BCS), dosežejo manjšo mlečnost in so bolj podvržene pojavu obporodnih presnovnih bolezni (ketoza), motenj v reprodukciji in pojavu šepanja (Gearhart in sod., 1990). Ker po telitvi dnevno zaužijejo manj krme kot krave v primerni kondiciji, pride do izrazitejše NEB (višja koncentracija NEFA), kar pomeni večjo verjetnost za pojav ketoze (Markusfeld in sod., 1997). Krave v predobri kondiciji ( $BCS > 3,5$ ) bodo po telitvi tudi bolj shujšale (Domecq in sod., 1997), kar negativno vpliva na delovanje imunskega sistema (funkcijo limfocitov) (Lacetera in sod., 2005) in jeter (Drackley, 1999), to pa posledično pomeni slabše zdravstveno stanje živali (Markusfeld, 1985).



Slika 12: Sprejemljiv profil spremenjanja kondicije po telitvi (Roche in sod., 2009)  
Figure 12: Acceptable changes in body condition after calving (Roche et al., 2009)

### 2.3.4.3 Vpliv kondicije na reprodukcijo

Reprodukcia goveda je tesno povezana z oskrbljenostjo z energijo. Maščobe kot estri maščobnih kislin predstavljajo pomemben vir energije tudi za potrebe reprodukcije. Poleg tega vplivajo tudi na reprodukcijske procese, ki niso povezani z oskrbljenostjo z energijo, saj naj bi imele maščobne kisline neposreden vpliv na transkripcijo genov, ki kodirajo beljakovine, ti pa so ključni za dogodke v pojatvenem ciklusu. Povečana dostopnost maščobnih kislin omogoča povečano izločanje steroidnih hormonov in eikozanoidov, ki lahko spremenijo funkcijo jajčnikov in maternice ter s tem vplivajo na brejost (Mattos in sod., 2000).

Če izključimo vpliv upravljanja s čredo, je energijska bilanca najverjetnejši dejavnik, ki vpliva na uspešnost reprodukcije. Obstaja pozitivna korelacija med zgodnejšo oploditivijo in (Roche in sod., 2009):

- primerno kondicijo ob telitvi,
- manjšim zmanjšanjem kondicije po telitvi,
- hitrostjo hujšanja po telitvi,
- pridobivanjem kondicije ob osemenitvi.

Slabša kondicija je povezana z zakasnjeno aktivnostjo jajčnikov, nerednimi pulzi LH, slabim odzivom foliklov na gonadotropine in zmanjšano funkcionalno zmožnostjo folikla (Chagas in sod., 2007).

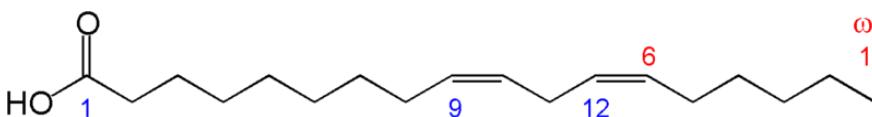
Zmanjšanje kondicije po telitvi je tudi v negativni povezavi z dnevi do oploditve. Pri kravah, ki so izgubile več kot 1 točko BCS, je verjetnost uspešne prve osemenitve 17 %, pri kravah, ki pa so izgubile manj kot 0,5 točke BCS, pa 65 % (Roche in sod., 2009). Tudi Markusfeld in sod. (1997) ugotavljajo zmanjšano možnost oploditve in podaljšan SI pri kravah, ki imajo v času prve osemenitve kondicijo 2,5 BCS ali manj, in pri kravah, ki se jim je kondicija zmanjšala za 0,75 do 1 BCS. Predvidevajo, da je razlog za to zmanjšana funkcionalna sposobnost ovuliranega folikla, ker se je razvijal v času NEB, lahko pa tudi zaradi manjših sprememb v izločanju steroidnih hormonov, ki regulirajo izražanje genov in izločanje proteinov v endometriju (Beam in Butler, 1999).

## 2.4 MAŠČOBNE KISLINE

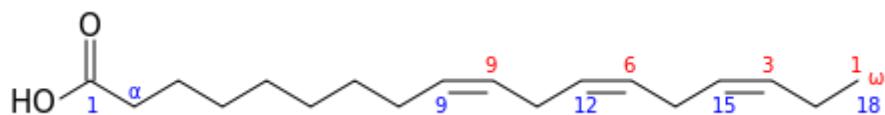
### 2.4.1 Maščobne kisline

Proste maščobne kisline (FFA) oziroma NEFA so zgrajene iz ogljikovodikove verige, sestavljene iz 14 do 18 oz. 20 do 24 ogljikovih atomov (ribje olje) in jih uvrščamo v dolgoverižne maščobne kisline. Funkcija maščobnih kislin je odvisna od njihove strukture, ta pa je determinirana z dolžino acilnih verig, številom in mestom dvojnih vezi ter s tipom izomere, ki jo formira vsaka dvojna vez. Vse naravno prisotne nenasičene maščobne kisline v rastlinah so cis konfiguracije. Trans konfiguracija nastane pri mikrobnii modifikaciji cis vezi in v kemijski hidrogenaciji (Drackley, 2007).

Glede na prisotnost dvojnih vezi v acilni verigi ločimo nasičene in nenasičene maščobne kisline. Nasičene maščobne kisline nimajo dvojnih vezi v acilni verigi. Nenasičene maščobne kisline imajo prvo dvojno vez med 9 in 10 ogljikom, vse naslednje so še bližje metilnemu koncu verige (Drackley, 2007). Glede na število dvojnih vezi jih uvrščamo v enkrat nenasičene maščobne kisline (MUFA) in večkrat nenasičene maščobne kisline (PUFA). Med nenasičene maščobne kisline (PUFA in MUFA) med drugimi spadajo oleinska, palmitinska, linolna in linolenska kislina (Mattos in sod., 2000). Glede na lego prve dvojne vezi iz metilnega konca jih klasificiramo v več družin. Linolna kislina (slika 13) ima 18 ogljikovih atomov in dve dvojni vezi (18: 2 omega-6). Prva je na šestem ogljikovem atomu iz metilnega konca, torej linolna kislina spada v družino omega-6. Linolenska kislina (slika 14) ima 18 C atomov in tri dvojne vezi (18: 3 omega-3), prva je na tretjem ogljikovem atomu iz metilnega konca, zato jo uvrščamo v družino omega-3. Pomembno je, da se maščobne kisline družine omega-3 ne morejo pretvoriti v maščobne kisline omega-6 in obratno (Mattos in sod., 2000). Linolenska kislina (18:3) je najbolj zastopana maščobna kislina v voluminozni krmi; v semenih žit in oljnic pa je najbolj zastopana linolna kislina (18:2) (Drackley, 2007).



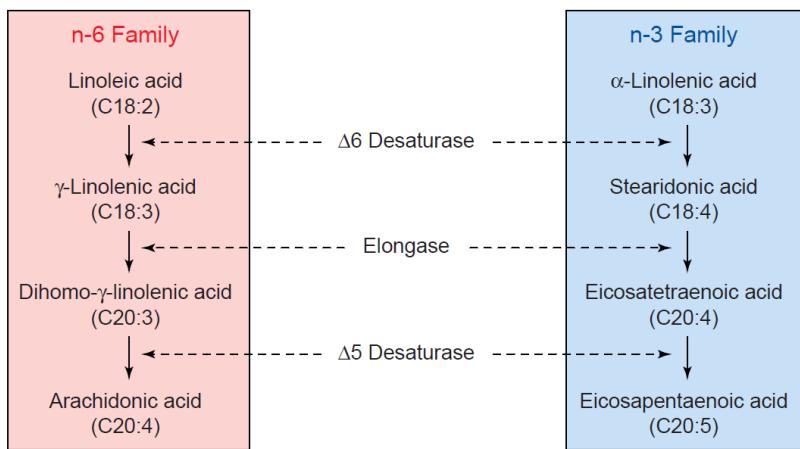
Slika 13: Kemična struktura linolne kislina ([https://sl.wikipedia.org/wiki/Linolna\\_kislina](https://sl.wikipedia.org/wiki/Linolna_kislina))  
Figure 13: Chemical structure of linoleic acid ([https://sl.wikipedia.org/wiki/Linolna\\_kislina](https://sl.wikipedia.org/wiki/Linolna_kislina))



Slika 14: Kemična stuktura linolenske kislina ([https://sl.wikipedia.org/wiki/Linolenska\\_kislina](https://sl.wikipedia.org/wiki/Linolenska_kislina))

Figure 14: Chemical structure of linolenic acid ([https://sl.wikipedia.org/wiki/Linolenska\\_kislina](https://sl.wikipedia.org/wiki/Linolenska_kislina))

Dvojne vezi nastajajo v procesu desaturacije, v katerem se s pomočjo encimov desaturaz odstranita vodikova atoma med dvema sosednjima atomoma ogljika in nastane dvojna vez (Orešnik in Kermauner, 2009a). Pri živalih desaturacija poteka na največ devetem ogljikovem atomu iz karboksilnega konca, kar pomeni, da živali ne morejo sintetizirati niti omega-3 niti omega-6 maščobnih kislin (Mattos in sod., 2000). Torej so linolna in linolenska maščobna kislina ter ARA (arahidonska kislina), EPA (eikozapentaenojska kislina) in DHA (dokozaheksaenojska kislina) esencialne. Linolna kislina je izhodiščna snov za tvorbo ARA, ki je surovina za tvorbo eikozanoidov (prostaglandini, tromboksani, prostaciklini in levkotrieni) in tkivnih hormonov. Organizem lahko s pomočjo desaturacije in podaljševanja (elongacije) iz linolne kislino tvori ARA (ARA je torej esencialna, če primanjkuje linolne kisline), iz linolenske pa EPA in DHA (slika 15), ki sta esencialni PUFA (Mattos in sod., 2000).



Slika 15: Presnova omega-6 (n-6) in omega-3 (n-3) maščobnih kislin (Mattos in sod., 2000)

Figure 15: Metabolism of omega-6 (n-6) and omega-3 (n-3) fatty acids (Mattos et al., 2000)

#### 2.4.2 Prebava maščobnih kislin pri prežvekovalcih

Krmni obrok krav molznic je navadno sestavljen iz sveže in konzervirane krme ter močnih krmil. Vse sestavine obroka vsebujejo maščobe. Na tem mestu se osredotočamo na tiste lipide,

ki kot krma govedu predstavljajo vir maščobnih kislin in holesterola. Delimo jih na strukturne lipide (glikolipidi, fosfolipidi), FFA, triacilgliceride in sterolne estre (Drackley, 2007).

Krmni obroki so največkrat sestavljeni tako, da vsebujejo malo maščob (Sterk, 2011), ker govedo prenese manj kot 5 % maščob v suhi snovi obroka, saj večji odstotek deluje zaviralno na vampovo mikrofloro. Če so maščobe zaščitene pred prebavo v vampu, je lahko odstotek maščob večji (Orešnik in Kermauner, 2009b). Obrok maščob je sestavljen iz približno 70 % nasičenih maščobnih kislin (SFA; saturated fatty acids), 25 % MUFA in 5 % večkrat PUFA (linolna kislina, metilni ester linolne kisline, linolenska kislina, ARA, EPA, DHA ...) (Sterk, 2011). NEFA v krmi praviloma ni, vezane so v eno od spodaj naštetih vrst maščob.

**Triacilgliceridi** so estri glicerola in treh maščobnih kislin. Njihova naloga je med drugim tudi shranjevanje energije. Večina se v vampu hidrolizira v glicerol in maščobne kisline. **Glikolipidi** so sestavnvi deli rastlinskih tkiv. Sestavljeni so iz glicerola, na katerega sta vezani dve maščobni kislini in sladkor (navečkrat galaktoza). V vampu se popolnoma razgradijo (Drackley, 2007).

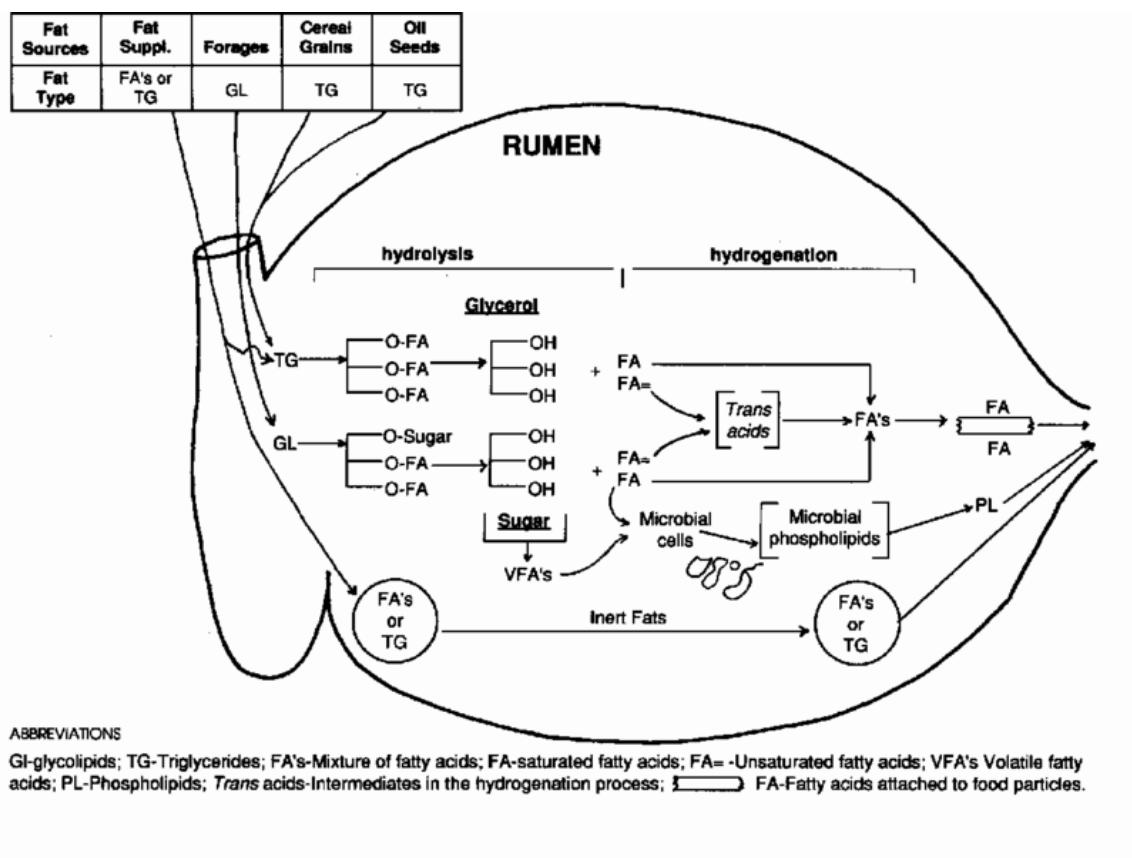
**Fosfolipidi** so gradniki celičnih membran. Sestavljeni so iz glicerola, na katerega sta vezani 2 maščobni kislini in ena fosfatna skupina. Na fosfatno skupino je vezana organska baza. V vampu se v večini razgradijo na osnovne komponente. Praživali in bakterije na novo izgrajujejo fosfolipide za lastne membrane, zato je količina prispevih fosfolipidov v vamp nižja od količine, ki zapusti vamp (Drackley, 2007).

#### 2.4.2.1 Mikrobna prebava maščobnih kislin v predželodcih

Glavna procesa, ki se dogajata v vampu, sta hidroliza estrskih vezi med glicerolom in maščobnimi kislinami ter hidrogenacija nenasičenih maščobnih kislin (slika 16) (Lock in sod., 2006).

Vampovi mikroorganizmi s svojimi encimi hidrolazami hidrolizirajo maščobe do maščobnih kislin in glicerola (Drackley, 2007). Obseg hidrolize je navadno visok (do 85 %), a se zniža, če v obroku povečamo količino maščob in če se pH v vampu zniža in s tem vpliva na vitalnost vampove mikroflore (Sterk, 2011). Obseg hidrolize je nizek tudi pri nasičenih maščobnih kislinah, ker so slabo topne in zato nedostopne encimom, ne prebavijo se niti v črevesju. Sladkorji in glicerol fermentirajo v lahko hlapne maščobne kisline (VFA) (Drackley, 2007).

Nenasičene maščobne kisline (PUFA) so strupene za večino vampovih bakterij, zato gredo po hidrolizi v proces hidrogenacije, da postanejo nasičene (Drackley, 2007). Prostim nenasičenim maščobnim kislinam se v procesu hidrogenacije reducira nekaj dvojnih vezi in spremeni orientacija izomere (Mattos in sod., 2000), postanejo nasičene in zato slabo topne ter posledično nedostopne bakterijskim encimom, torej neizkoristljive. Dokazano je, da je proces hidrogenacije nekaterih večkrat nenasičenih omega-3 maščobnih kislin zanemarljiv (EPA in DHA, ki se nahajata predvsem v ribjem olju in mesu). Delno se procesu biohidrogenacije izognejo kalcijeve soli dolgoverižnih maščobnih kislin. Če se torej nenasičene maščobne kisline ognejo hidrogenaciji, v dvanajstniku dosežejo večjo koncentracijo in se v procesih presnove lahko izkoristijo (skladiščijo v maščobnem tkivu ali porabijo za sintezo mlečne maščobe) (Mattos in sod., 2000).



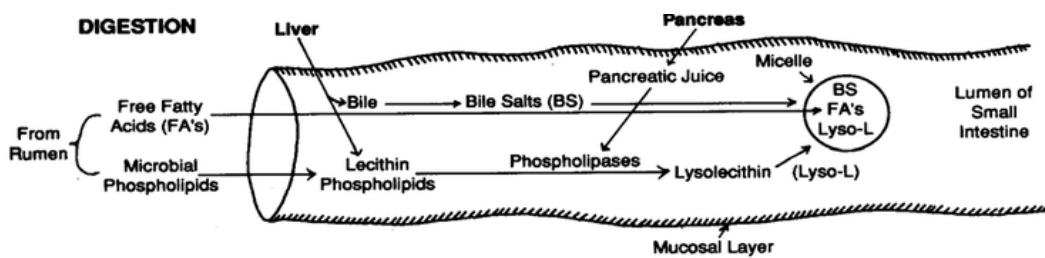
Slika 16: Mikrobnna prebava maščob v vampu (Lock, 2006)  
Figure 16: Lipid digestion in the rumen (Lock, 2006)

Legenda: GI – glikolipidi; TG – triacilgliceridi; FA's – različne maščobne kisline; FA – nasičena maščobna kislina; FA= – nenasičena maščobna kislina; VFA's – luhkohlapne maščobne kisline; PL – fosfolipidi; trans acids – vmesni produkti procesa hidrogenacije.

V vampu je večina maščobnih kislin zaradi skoraj nevtralne pH vrednosti (6,5–6,8) vezana v obliki K, Na in Ca soli. V sirišniku je pH blizu 2, zato soli disociirajo, FFA pa se adsorbirajo na površino majhnih delcev krme. Siriščnik večinoma zapuščajo nasičene maščobne kisline (80–90 %), in sicer 2/3 stearinske (C18:0) in 1/3 palmitinske (C16:0) (Drackley, 2007).

#### 2.4.2.2 Prebava maščobnih kislin v tankem črevesu

V tanko črevo iz siriščnika pridejo FFA (85–90 %) in fosfolipidi mikrobnih celičnih membran (10–15 %). Absorpcija poteka s pomočjo formiranja micel. Za absorpcijo nasičenih maščobnih kislin je bistven lizolecitin (ang. *lysolecithin*), ki je zelo učinkovit emulgator. Lizolecitin nastane iz lecitina s pomočjo encima trebušne slinavke (fosfolipaze). Lecitin je glavni fosfolipid v membrani vamovih mikroorganizmov (slika 17) (Drackley, 2007).



Slika 17: Prebava maščob v tankem črevesju (Lock, 2006)  
Figure 17: Lipid digestion in the small intestine (Lock, 2006)

Ko so FFA v enterocitu, se ponovno vežejo v triacilglicerole. Triacilgliceroli se nato skupaj s holesterolom, fosfolipidi in apoproteini formirajo v hilomikrone (VLDL). Hilomikroni preko limfnega obtoka preidejo v krvni obrok ter nato po celiem telesu, tudi v mišice, srce in mlečno žlezo. V kapilarah teh organov se s pomočjo encima lipaze odcepijo maščobne kisline, ki vstopijo v celice. V njih se lahko spet formirajo v triacilgliceride (mlečna maščoba) ali pa se porabijo kot vir energije (kontrakcija srčne ali skeletne mišičnine) (Drackley, 2007).

Manjša količina nenasičenih maščobnih kislin (PUFA) (predvsem EPA in DHA), ki sta pomembna in esencialna gradnica celičnih membran, zaobideta biohidrogenacijo v vampu (Orešnik in Kermauner, 2009b). Po absorpciji v enterocite se PUFA namesto v triacilglicerole vežejo v fosfolipide in holesterolne estre. V mlečni žlezi, maščobnem tkivu, modih, možganih, placenti in jetrih gredo v proces desaturacije in elongacije. Nastali produkti se v obliki fosfolipidov vgradijo v membrane celic in tako postanejo gradniki celičnih membran, ne pa

energijska komponenta. Iz celičnih membran se lahko sprostijo in se presnovijo v pomembne signalne molekule (prostaglandine, levkotriene) (Drackley, 2007), ki parakrino vplivajo na kontraktilnost mišičnih vlaken, krvni tlak, permeabilnost kapilar, zlepljanje trombocitov, imunski sistem, vnetne procese ... (Orešnik in Kermauner, 2009b). PUFA se inkorporirajo v celične membrane vseh tkiv, tudi imunskega in reproduktivnega sistema. Tu se pokaže smiselnost dajanja prehranskih dodatkov, ki vsebujejo PUFA, ki so zaščitene pred razgradnjo v vampu. Obstajajo različni načini za pridobivanje zaščitenih maščob. Lahko povečamo nasičenost maščobnih kislin s hidrogenacijo, kar zmanjša topnost in potencialno interakcijo maščobnih kislin z vampovimi encimi. Maščobne kisline lahko le delno hidrogeniramo; če so močno hidrogenirane, so zelo slabo topne in so tako nedostopne vampovi mikroflori in tudi encimom trebušne slinavke ter tako ostanejo neprebavljeni. Drugi način je, da vežemo maščobne kisline s kalcijem v kalcijeve spojine in jih s tem naredimo nedostopne za vampove encime. Problem je, da take spojine vplivajo na ješčnost, saj zmanjšujejo dnevno zaužitje suhe snovi. Tretji način pa je, da maščobne kisline inkapsuliramo in jih tako zaščitimo pred vampovimi mikroorganizmi, a jih naredimo dostopne encimom trebušne slinavke (Drackley, 2007).

#### **2.4.3 Vplivi maščobnih kislin v prehrani na plodnost krav**

Reprodukcijska dejavnost je tesno povezana z oskrbljenostjo z energijo. Vir energije predstavljajo maščobe. Maščobe v prehrani ugodno delujejo na reprodukcijo tako z dovajanjem energije kot tudi z vplivom na reprodukcijske procese, ki niso povezani z energijo. Maščobne kisline so npr. prekurzorji za tvorbo steroidov in eikozanoidov, ki vplivajo na funkcijo jajčnikov in maternice (Mattos in sod., 2000). Teoretično gledano krmljenje z večjimi količinami maščobnih kislin pomeni večji vnos energije, kar pomeni zmanjšanje NEB, ki ima za posledico tudi boljšo plodnost (Grummer in Carroll, 1991).

##### **2.4.3.1 Oskrba z esencialnimi maščobnimi kislinami**

Linolna kislina je esencialna maščobna kislina, iz katere nastaja PGF<sub>2α</sub>. PGF<sub>2α</sub>, ki se izloča iz maternice, ima pomembno vlogo pri luteolizi, spodbuja rast foliklov, pospešuje involucijo maternice in s tem ugodno vpliva na plodnost krav. V vampu se približno 60–90 % linolne

kisline zaradi delovanja vampove mikroflore hidrogenira (Murphy in sod., 1987), zato jo v zgodnjem puerálnem obdobju primanjkuje. Krmljenje z večjimi količinami linolne kisline, ki bi se izognile hidrogenaciji v vampu, bi lahko torej izboljšalo reproduktivno sposobnost krav. Po intravenozni infuziji lipidov (20 % emulzija soje, ki vsebuje približno 50 % linolne kisline) telicam se je povečala koncentracija PGF<sub>2α</sub> (oz. presnovka PGFM, 13, 14-dihydro-15-keto-PGF<sub>2α</sub>) v plazmi (Lucy in sod., 1990), povečalo se je tudi število foliklov na jajčnikih in premer največjega folikla (Staples in sod., 1998).

#### 2.4.3.2 Energijska bilanca in izločanje LH

Krmljenje s trigliceridi nima neposrednega vpliva na izločanje LH, ampak vpliva nanjo preko energijske bilance (Grummer in Carroll, 1991; Mattos in sod., 2000).

NEB podaljša poporodno anestrijo in zmanjša frekvenco pulzatilnega izločanja LH, ki je nujno potreben za rast in razvoj foliklov (Randel, 1990), in za ponovno vzpostavitev ciklusa (Grummer in Carroll, 1991). Dodani trigliceridi povečajo koncentracijo energije v obroku, kar naj bi izboljšalo oskrbo z energijo in posledično omililo energijsko bilanco krav ter preko izboljšanja energijske bilance pozitivno vplivalo na izločanje LH (Mattos in sod., 2000). Neposreden vpliv energijske bilance na izločanje LH so ugotovili s poskusom, v katerem so restriktivno krmili ovarihisterektomirane telice. Povprečna koncentracija LH in frekvenca izločanja pulzov LH sta bili pri restriktivno krmljenih telicah zmanjšani (Imakawa in sod., 1987). Po ugotovitvah drugih raziskav pa naj bi krave zaradi večje koncentracije energije v obroku pojedle manj, torej bi zaužile enako energije, in zaradi tega ne bi izboljšale svoje bilance energije (Jerred in sod., 1990).

Pri ovkah so dokazali, da krmljenje z maščobami nima neposrednega vpliva na izločanje LH, saj so bili vzorci izočanja LH pri ovariekтомiranih ovkah podobni pri kontrolni skupini in skupini, ki je dobivala intravenozno infuzijo lipidov (20 % emulzija soje, ki vsebuje cca 50 % linolne kisline). Prav tako so dokazali, da je izločanje LH negativno povezano s slabšo kondicijo ob jagnitvi in ni povezano s krmljenjem z lipidnimi dodatki (Grummer in Carroll, 1991).

Čeprav prehranske nenasicene maščobne kisline neposredno ne vplivajo na izločanje LH, pa po drugih mehanizmih vseeno vplivajo na dinamiko rasti foliklov, ki je neodvisna od statusa energije. V posameznih študijah so dokazali, da krmljenje z maščobnimi kislinami spremeni

dinamiko rasti foliklov, ki ni v povezavi z bilanco energije (Lucy in sod., 1993; Lucy in sod., 1991; Mattos in sod., 2000; Grummer in Carroll, 1991):

- pospeši rast preovulatornega folikla,
- poveča skupno število foliklov,
- vpliva na velikost preovulatornih foliklov. Povečana velikost preovulatornih foliklov bi bila lahko posledica povečane koncentracije LH v plazmi.
- vpliva na izboljšanje reprodukcijskih parametrov. Skupina krav, krmljena z dodatkom 0,45 kg dolgoverižnih maščobnih kislin na dan, je imela v primerjavi s kontrolno skupino 2,22-krat večjo verjetnost uspešne osemenitve. Verjetnost uspešne prve semenitve je bila pri kontrolni skupini 0,418, pri testirani skupini pa 0,615.

#### 2.4.3.3 Okrepitev lutealne steroidogeneze

Krmljenje trigliceridov zviša koncentracijo plazemskega holesterola, ki je prekurzor progesterona (Grummer in Carroll, 1991; Mattos in sod., 2000). Progesteron pripravi maternico na sprejem in implantacijo zarodka ter pomaga ohranjati brejost s stimulacijo histotrofa, ki je odgovoren za prehrano zarodka (Mattos in sod., 2000). Krave, krmljene z dodatkom maščobnih kislin, imajo v krvi večjo koncentracijo progesterona in holesterola (Talavera in sod., 1985; Williams, 1989), ker ovulirajo z večjimi preovulatornimi folikli (Lucy in sod., 1991; Lucy in sod., 1993). Ovulacija večjih foliklov lahko rezultira v formaciji večjega rumenega telesa, ki ima večjo zmožnost proizvajanja progesterona. Poleg večjih preovulatornih foliklov rezultati preiskav nakazujejo, da se v primeru krmljenja z dodatkom maščobnih kislin tudi zmanjša odstranjevanje progesterona (Hawkins in sod., 1995).

Zaradi večje koncentracije progesterona je delež brejih krav večji (Mattos in sod., 2000), saj je povečana koncentracija plazemskega progesterona v lutealni fazni prejšnjega ciklusa in po osemenitvi povezana z večjim deležem brejih krav (Butler in sod., 1996).

Kontradiktorno je dejstvo, da *in vitro* inkubacija dispergiranih lutealnih celic s PUFA (EPA in DHA) zmanjša izločanje progesterona (Hinckley in sod., 1996). Potrebne so nadaljnje raziskave, da bi ugotovili, ali maščobne kisline res vplivajo na izločanje progesterona *in vivo* (Mattos in sod., 2000).

#### 2.4.3.4 Vpliv nenasičenih maščobnih kislin na luteolizo

Prostaglandini so odgovorni za začetek novega pojatvenega ciklusa (inducirajo luteolizo) in so tudi regulatorji poroda. Prekurzor prostaglandinov druge serije je arahidonska kislina, ki jo organizem lahko dobi s krmo ali pa jo sintetizira *de novo* iz linolne kisline (omega-6) z desaturacijo na 5. in 6. ogljikoven atomu ter elongacijo za 2 ogljika (Mattos in sod., 2000).

Omega-3 in omega-6 esencialne maščobne kisline inhibirajo izločanje eikozanoidov v mnogih tipih celic, gojenih *in vitro* (Levine in Worth, 1984). Tudi *in vivo* je dokazano, da visoke koncentracije polinenasičenih maščobnih kislin (PUFA) v prehrani krav lahko znižajo endometrialno izločanje prostaglandinov (Oldick in sod., 1997; Thatcher in sod., 1997). Krmljenje omega-3 maščobnih kislin po 40. dnevu po telitvi lahko zmanjša izločanje PGF<sub>2α</sub>, kar zmanjša izgube brejosti in s tem poveča plodnost (Dirandeh in sod., 2013). Omega-3 maščobne kisline so močnejši zaviralci lipogene transkripcije kot omega-6 maščobne kisline (Clarke in Jump, 1996).

Mehanizmi, preko katerih PUFA zmanjšujejo izločanje PGF<sub>2α</sub>, so (Larsen in sod., 1997; Trujillo in Broughton, 1995; Corey in sod., 1983; Sessler in Ntambi, 1998):

- zmanjšajo sintezo ARA v materničnem ali založnem tkivu (poskus na podganah),
- tekmujejo z omega-3 maščobnimi kislinami za desaturazo (poskus na podganah),
- spremenijo profil maščobnih kislin v membrani celice,
- s PUFA tekmujejo za encim prostaglandin H sintaza (PGHS),
- inhibirajo sintezo in aktivnosti encima prostaglandin H sintaze (PGHS),
- vplivajo na izražanje genov.

Možno je, da PUFA poleg supresije se sekrecije prostaglandinov vpliva tudi na občutljivost rumenega telesa na PGF<sub>2α</sub>. Krmljenje z nenasičenimi maščobnimi kislinami (v ribjem olju) zmanjša občutljivost rumenega telesa na PGF<sub>2α</sub> (Burke in sod., 1997), saj je EPA, ki je v ribjem olju, prekurzor za sintezo vazodilatatorja PGI<sub>3</sub>. Zato je možno, da ta prostaglandin delno nevtralizira vazokonstriktorne učinke PGF<sub>2α</sub> in zato pride do kasnejše luteolize. Druga možna razloga pa je, da krmljenje z ribjim oljem zmanjša izločanje PGF<sub>2α</sub> iz endometrija, kar zakasni luteolizo (Mattos in sod., 2000).

Krmljenje s PUFA vpliva tudi na brejost. Za ohranitev brejosti je ključno zmanjšanje izločanja PGF<sub>2α</sub> in ohranitev rumenega telesa. Motnje v teh dveh procesih lahko prekinejo do 40 % vseh brejosti. Opisano je, da tudi med zgodnjo brejostjo zaradi krmljenja s PUFA pride do zmanjšanja izločanja PGF<sub>2α</sub> in zmanjšane občutljivosti rumenega telesa na PGF<sub>2α</sub>. Torej bi s krmljenjem PUFA lahko izboljšali plodnost krav, saj bi s tem zmanjšali izločanje PGF<sub>2α</sub> in tako zmanjšali delež zgodnje embrionalne smrtnosti zaradi pomanjkljive supresije izločanja PGF<sub>2α</sub> (Mattos in sod., 2000).

#### *2.4.3.4.1 Vpliv prostaglandinov na ovulacijo*

PGE<sub>2</sub> in PGF<sub>2α</sub> sta pomembna mediatorja v procesu ovulacije. Indometacin, inhibitor sinteze prostaglandinov, prepreči ovulacijo pri podganah, kuncih, ovcah, opicah in ljudeh (Sogn in sod., 1987). Potrebne so nadaljnje raziskave, da bi ugotovili, če krmljenje z maščobnimi kislinami vpliva na ovulacijo pri govedu (Mattos in sod., 2000).

Krave, krmljene z ribjo moko, imajo po sinhronizaciji ciklusa normalno pojatev in uspešnost osemenitve (Burke in sod., 1997).

### 3 **MATERIALI IN METODE**

#### 3.1 MATERIALI

Za našo raziskavo smo izbrali zasebno govedorejsko kmetijo z Gorenjske, na kateri imajo že dlje časa težave s plodnostjo krav (podaljšana DMT, visok delež pregonjenih krav, cistične spremembe na jajčnikih ...). Raziskava je potekala od novembra 2017 do konca marca 2018. Na izbrani kmetiji redijo 90 krav molznic črno-bele (ČB) pasme. Živali so v prosti reji z individualnimi ležalnimi boksi, s krmilno mizo, z računalniško vodenim krmilnikom za močna krmila, napajalnim koritom in pokritim izpustom. Živali se ne pasejo. Pojatve odkrivajo predvsem z opazovanjem obnašanja živali med opravljanjem ostalih opravil na kmetiji. Vse živali so označene z ušesno število in številko na ovratnici. Čreda ima neznan status glede infekcionskega bovinega rinotraheetisa/infekcionskega pustularnega vulvovaginitisa (IBR/IPV) ter bovine virusne diareje (BVD).

V raziskavo so bile vključene krave po telitvi, ki smo jih naključno razdelili v dve skupini. Krave v poskusni skupini so bile v povprečju za več kot eno laktacijo starejše od krav v kontrolni skupini (tabela 1).

Tabela 1: Zaporedna laktacija krav v v času poskusa  
Table 1: Succesive lactation of cows during the experiment

<b>Zap. št. krave</b>	<b>Zaporedna laktacija v času poskusa</b>
1	5
2	2
3	4
4	6
5	2
<b>Srednja vrednost ±SD</b>	<b><math>3,80 \pm 1,79</math></b>
6	2
7	2
8	3
9	2
10	3
<b>Srednja vrednost ±SD</b>	<b><math>2,40 \pm 0,55</math></b>

### 3.1.1 Prehrana živali

Osnovni obrok je sestavljen iz sena, koruzne in travne silaže ter z dodatkom koncentratov za proizvodnjo 30 litrov mleka.

Živali v kontrolni skupini so prejemale standardni obrok, ki je krma, pripravljena v mešalni prikolici, v katero dajo seno, travno in koruzno silažo ter močna krmila za prirejo 30 litrov mleka dnevno. Natančnejše sestavine so navedene v tabeli 2, vsebnost hraničnih snovi pa je navedena v tabeli 3. Krave z večjo mlečnostjo se individualno krmijo še z močnimi krmili z računalniško vodenim krmilnikom. Največja količina močnih krmil, ki jih lahko krava ob posameznem krmljenju dobi, je 1,5 kilograma.

Tabela 2: Sestava obroka

Table 2: Composition of the meal

Surovina	Količina
Pšenična slama	0,5 kg
Koruzna silaža	23,5 kg
Travna silaža	19,0 kg
Melasa sladkorne pese	0,75 kg
Žitni DDGS (Distiller's dried grains with solubles)	1 kg
Žitmix	2 kg
K-mix-41 moka	3,0 kg
Soda bikarbona	0,06 kg

Tabela 3: Vsebnost hraničnih snovi v obroku

Table 3: Nutrient content of the meal

Hranljiva snov	Količina
Suha snov (SS)	448,73 g/kg
Surove beljakovine	153,89 g/kgSS
Surove vlaknine	168,26 g/kgSS
Škrob	227,82 g/kgSS
Sladkor	48,92 g/kgSS
Neto energija laktacije	6,50 MJ/kgSS
Presnovljive beljakovine PBE	58,83 g/kgSS
Presnovljive beljakovine PBN	61,94 g/kgSS
Prebavljive surove beljakovine	70,89 g/kgSS
Nerazgradljive surove beljakovine	55,16 g/kgSS
Izkoristljive surove beljakovine	164,21 g/kgSS
Bilanca dušika	-1,23 g/kgSS
Fosfor –skupni	4,38 g/kgSS
Kalcij	8,50 g/kgSS
Magnezij	3,14 g/kgSS
Natrij	3,20 g/kgSS

Živali v poskusni skupini so od 20. dne po telitvi do prve osemenitve skupaj z drugimi močnimi krmili dobivale še 1 kilogram dodatka K-Repro-Lakt-Omega® na dan. K-Repro-Lakt-Omega® je energijsko bogato krmilo z dodanimi omega-3 nenasičenimi maščobnimi kislinami in aktivatorji vampove mikroflore. Vsebuje pesne rezance, pšenično krmilo, pšenico, koruzni krmni gluten, laneno seme, posušene droži, seme ogrščične tropine, pesni sladkor, ribje olje, kalcijev karbonat in natrijev klorid. Laneno seme in ribje olje vsebujeta omega-3 in omega-6 maščobne kisline. Vsebnost analitskih sestavin je sledeča: 13% surovih beljakovin, 16% surovih maščob, 8% surove vlaknine, 6,8% surovega pepela, 1,2% kalcija; 0,45% fosforja, 0,4% natrija in 0,25% magnezija.

### **3.1.2      Ocena telesne kondicije živali**

Živalim smo ob obiskih reje ocenili oceno BCS. Za oceno smo uporabljali petstopenjski sistem ocenjevanja, pri čemer ocena 1 pomeni močno shujšano žival, ocena 5 pa predebelo žival (Edmondson in sod., 1989). Zaradi večje natančnosti smo ocenjevali kondicijo krav na četrtinko točke natančno.

### **3.1.3      Vzorčenje in odvzem vzorcev**

Skupno smo vzorčili 10 krav in jih razvrstili v skupino naključno glede na čas telitve. Tri krave so bile predčasno izločene, nadomestile so jih druge tri. Ena krava je bila predčasno izločena zaradi poškodbe noge, ena zaradi poškodbe seska in ena, ker ni jedla krmil. Na kmetiji smo jemali vzorce krvi in mleka.

Z namenom ocene zdravstvenega stanja in odkrivanja subkliničnih bolezni smo odvzeli in analizirali vzorce krvi ob vključitvi živali v skupino in ponovno čez tri tedne. Kri smo odvzeli iz repne vene (*v. caudalis mediana*) v vakumske epruvete. Epruvete s krvjo smo ustrezno označili in shranili do prihoda v laboratorij, kjer smo vzorce obdelali.

Vzorce mleka za določanje progesterona so jemali dvakrat tedensko pri večerni molži. Lončke so ustrezno označili in jih pripeljali v laboratorij.

## 3.2 METODE

### 3.2.1 Biokemijske preiskave

Vzorce za biokemijske preiskave smo pustili na sobni temperaturi, da je kri koagulirala. Nato smo jih centrifugirali 10 minut na 3000 obratih na minuto in odlili serum. Odlite vzorce seruma smo ponovno centrifugirali, da smo dobili vzorce popolnoma brez krvnih celic. Te vzorce smo nato do preiskav hranili globoko zamrznjene na –22 °C.

Biokemijske preiskave smo opravili z avtomatskim biokemijskim analizatorjem RX Daytona (Randox Laboratories Ltd, Velika Britanija). Določevali smo celotne serumske beljakovine (CSB), albumine (Alb), razmerje med albumini in globulini (Alb/glob izračun), anorganski fosfor (aP), kalij (K), natrij (Na), klor (Cl), beta-hidroksibutirat (BHB) ter aktivnost encimov gama-glutamil transferaze (GGT) in aspartat aminotransferaze (AST).

Vsebnost beta-karotena smo določali s fotometrično metodo po Yudkinu (1941).

### 3.2.2 Imunokemijske analize

V krvnem serumu in mleku (mlečnem serumu) krav smo merili vsebnost progesterona (PRG) z imunološkim analizatorjem MiniVIDAS (Biomerieux, Francija). Vzorce krvnega seruma za analize smo pripravili enako kot vzorce za biokemijske preiskave. Vzorce mlečnega seruma smo dobili tako, da smo vzorce mleka centrifugirali 15 minut na 4500 obratih na minuto in nato dobljeno posneto mleko ponovno centrifugirali v Eppendorf epruvetah 30 minut na 13000 obratih na minuto.

Princip določanja analitov z imunološkim analizatorjem MiniVIDAS je ELFA tehnika (*Enzyme linked fluorescent assay* – encimsko imunski test s fluorescenčno detekcijo iskane substance). Fluorescenco progesterona naprava meri pri valovni dolžini 450 nm. Moč signala je obratno sorazmerna koncentraciji progesterona v analiziranem vzorcu. Naprava avtomatsko izračuna rezultate na podlagi shranjene kalibracijske krivulje in jih natisne.

Progesteronske profile smo razdelili na pravilen progesteronski profil (fiziološka aktivnost jajčnikov), pri katerem se visoke vrednosti progesterona redno izmenjujejo z nizkimi in

prikazujejo normalni interval pojatvenega ciklusa. Pri nepravilnem progesteronskem profilu se ne prikazujejo normalni dnevni intervali pojatvenega ciklusa (obdobje od ene pojatve do druge), ki pri kravi v povprečju traja 21 dni.

### **3.2.3 Pregled rodil s transrektalnim ultrazvokom**

Opravili smo dva pregleda rodil krav s transrektalnim ultrazvokom. Prvega smo opravili 22. 12. 2017, drugega pa 24. 4. 2018. Najprej smo pregledali jajčnika, nato še maternico. Sproti smo zapisovali ugotovitve.

### **3.2.4 Pregled kontrole mleka (AT4)**

Iz Centralne podatkovne zbirke govedo (CPZ govedo) smo pridobili podatke o kontrolah mlečnosti na kmetiji. Upoštevali smo podatke prvih treh mlečnih kontrol po telitvi za preiskovane krave za sedanjo laktacijo.

### **3.2.5 Statistična obdelava podatkov**

Za podatke kontrol mlečnosti smo v programu Excel 2013 izračunali tehtano povprečje. Za reproduksijske parametre in ocene telesne kondicije smo s programom Excel 2013 izračunali opisno statistiko (srednja vrednost in standardna deviacija (SD)).

Zaradi majhnega števila živali smo za primerjavo podatkov mlečnih kontrol med poskusno in kontrolno skupino krav uporabili neparametrični Mann-Whitney U test neodvisnih vzorcev. Za primerjavo parametrov reprodukcije med predhodno in sedanjo laktacijo smo uporabili parni Wilcoxon Signed Rank test, za primerjavo med poskusno in kontrolno skupino pa neparametrični Mann-Whitney U test neodvisnih vzorcev. Izračun smo opravili s programom SPSS (Ver 22).

## 4 **REZULTATI**

Krave v poskusni skupini so dobivale krmni dodatek K-Repro-Lakt-Omega® in so označene z zaporednimi številkami od 1 do 5. Krave v kontrolni skupini so označene z zaporednimi številkami od 6 do 10.

### 4.1 LABORATORIJSKE PREISKAVE

#### 4.1.1 Preiskava krvi

Z namenom ocene zdravstvenega stanja in odkrivanja subkliničnih bolezni smo kravam dvakrat odvzeli kri, rezultati preiskav so predstavljeni v tabeli 2.

Tabela 4: Rezultati preiskav krvi  
Table 4: Results of blood analysis

Zap. št. krave	Št. odvzema	AST [U/L]	GGT [U/L]	CSB [g/L]	Alb [g/L]	Razmerje alb/glob	BHB [mmol/L]	PRG [ng/mL]	beta-karoten [%]	aP [mmol/L]	Na [mmol/L]	K [mmol/L]	Cl [mmol/L]
1	1	83	14	79,2	36,3	0,85	1,93↑	<0,25	405	2,39↑	145,6	4,81	102
	2	94	10	80,9↑	39,1↑	0,94	1,09↑	2,83	626	2,39↑	/	/	/
2	1	79	20	77,7	36,9	0,9	0,66	<0,25	542	2,23	141,4	4,63	101
	2	80	22	72,7	37,1	1,04	0,97	0,3	598	2,07	/	/	/
3	1	100	24	82,1↑	40,5↑	0,97	0,76	10,82	503	2,11	145,2	5,3	106
	2	110	30	79,2	39,7↑	1,01	0,78	0,85	1058	2,14	/	/	/
4	1	89	27	84,5↑	32,1	0,61↓	0,92	<0,25	350↓	1,61	145,2	4,52	103,6
	2	111	21	83,6↑	32,5	0,64↓	0,91	<0,25	696	2,1	/	/	/
5	1	109	27	79,1	41,1↑	1,1	0,54	3,57	489	2,4↑	143,7	5,13	95,8
	2	99	23	78,0	41,8↑	1,15	0,87	9,60	725	2,39↑	/	/	/
6	1	123↑	15	72	39,7↑	1,23↑	0,92	11,45	738	2,61↑	140,9	5,99↑	100
	2	114	28	72,9	38,1↑	1,09	1,03↑	0,87	871	2,92↑	/	/	/
7	1	83	25	79,6	39,5↑	0,99	0,92	<0,25	479	2,32↑	143,8	5,1	100,5
	2	79	28	83,1↑	39↑	0,87	0,47	11,47	708	2,39↑	/	/	/
8	1	114	16	76	40,8↑	1,16	1,15↑	<0,25	263↓	2,56↑	142,3	5,91↑	98,5
	2	80	21	75,1	40↑	1,14	0,6	<0,25	397↓	2,01	/	/	/
9	1	99	14	80,1↑	40,3↑	1,01	0,49	6,82	391↓	2,26↑	144,8	4,88	101,6
	2	123↑	15	87,5↑	40,8↑	0,87	0,42	6,77	529	2,94↑	/	/	/
10	1	76	16	77	37,9	0,97	0,71	<0,25	169↓	1,85	144,6	5,48	101,2
	2	84	17	83,1↑	39,6↑	0,91	0,61	<0,25	251↓	2,16	/	/	/

Legenda: 1–5: poskusna skupina; 6–10: kontrolna skupina.

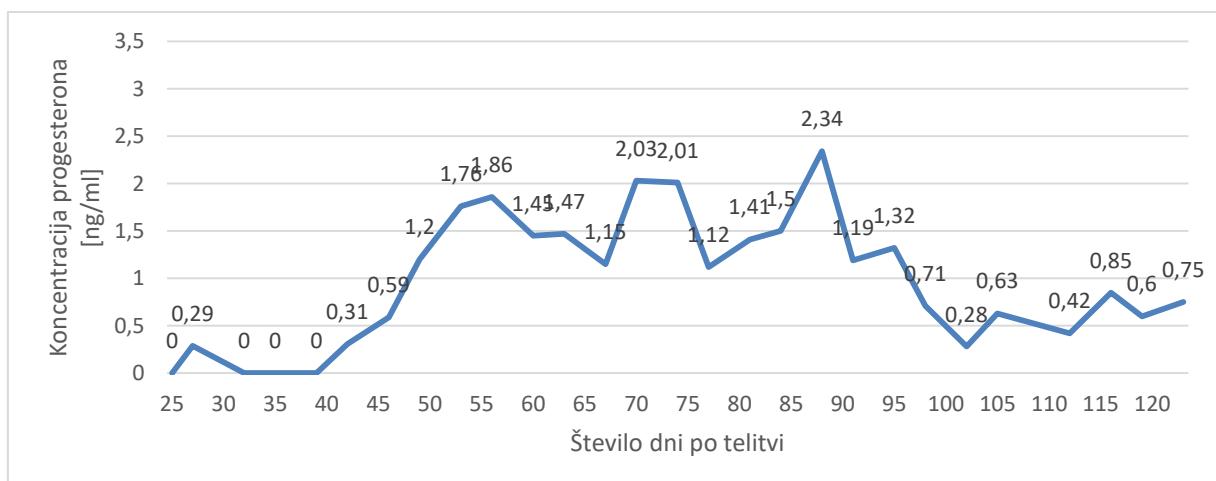
Orientacijske normalne vrednosti: AST do 120 U/L; GGT do 36 U/L; celotne serumskie beljakovine (CSB) od 70 do 80 g/L; albumin od 27 do 38 g/L; razmerje alb/glob od 0,8 do 1,20, BHB do 1,00 mmol/L; beta karoten nad 400 gama%; aP od 1,61 do 2,25 mmol/L; Na od 140 do 157 mmol/l; K od 4,2 do 5,8 mmol/l, Cl od 90 do 108 mmol/; (Jazbec, 1990; Whitaker, 2000; Kraft, 1999). Vrednosti nad orientacijsko normalno vrednostjo so označene z ↑; vrednosti pod orientacijsko normalno vrednostjo pa z ↓.

Opomba: Na, K, Cl smo merili le ob prvem odvzemtu krvi.

Pri dveh kravah v kontrolni skupini smo ugotovili mejno povečano aktivnost encima AST. Vsebnost anorganskega fosforja je bila povisana pri dveh kravah v poskusni skupini in pri štirih kravah v kontrolni skupini pri obeh odvzemih. Vsebnost CSB je bila povisana pri treh kravah v poskusni in treh kravah v kontrolni skupini. Pri eni kravi v poskusni in eni v kontrolni skupini je bila vsebnost CSB povisana pri obeh odvzemih. Vsebnost Alb je bila povisana pri treh kravah v poskusni skupini in pri vseh kravah v kontrolni skupini pri enem ali obeh odvzemih. Vrednost razmerja med albumini in globulini je bila zvišana pri eni kravi v kontrolni skupini pri prvem odvzemu ter znižana pri eni kravi v poskusni skupini pri obeh odvzemih. Vsebnost BHB je bila povisana pri eni kravi v poskusni skupini pri obeh odvzemih in dveh kravah v kontrolni skupini pri enem odvzemu. Vsebnost beta-karotena je bila prenizka pri eni kravi v poskusni skupini pri prvem odvzemu in pri treh kravah v kontrolni skupini. Vsebnost K je bila povisana pri dveh kravah v kontrolni skupini. Vrednosti ostalih parametrov so bile v mejah referenčnih vrednosti.

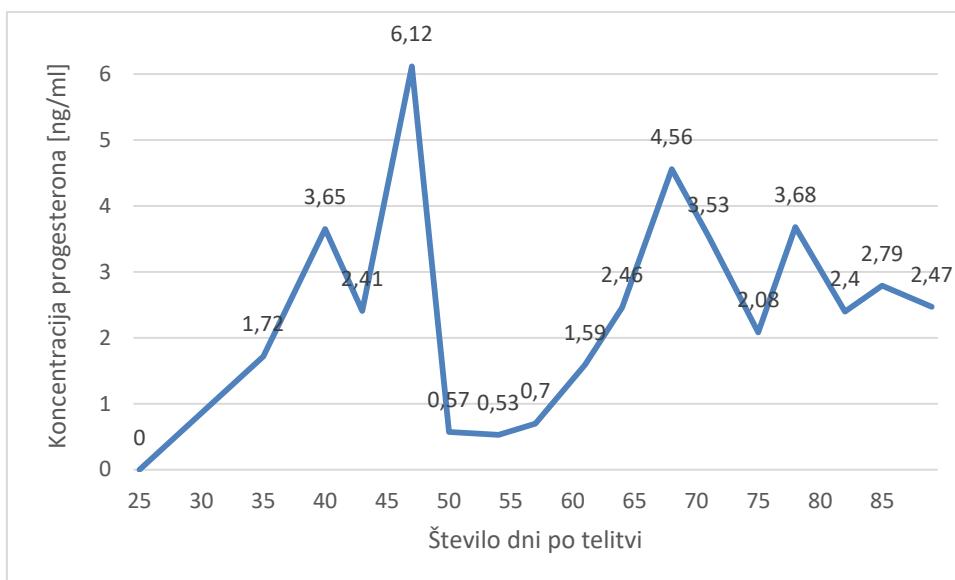
#### 4.1.2 Preiskava mleka

V vzorcih mleka, ki so bili odvzeti dvakrat tedensko, smo merili vsebnost progesterona za določitev progesteronskega profila.

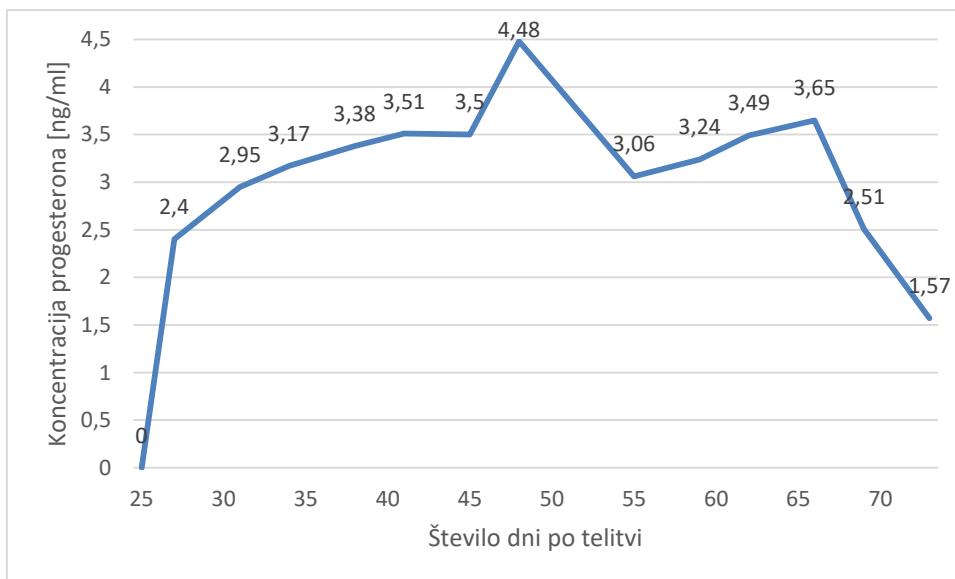


Slika 18: Koncentracija progesterona v mleku v odvisnosti od časa po telitvi za kravo 1 (poskusna skupina).  
Progesteronski profil je nepravilen.

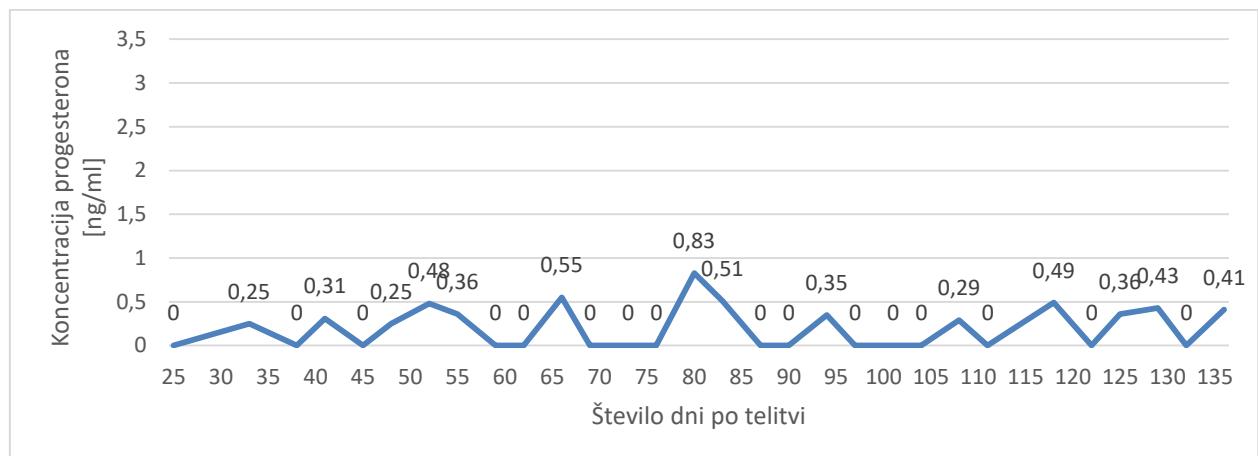
Figure 18: Concentration of progesterone in milk as a function of time after calving for cow 1 (experimental group). The progesterone profile is incorrect.



Slika 19: Koncentracija progesterona v mleku v odvisnosti od časa po telitvi za kravo 2 (poskusna skupina).  
Progesteronski profil je pravilen.  
Figure 19: Concentration of progesterone in milk as a function of time after calving for cow 2 (experimental group). The progesterone profile is correct.

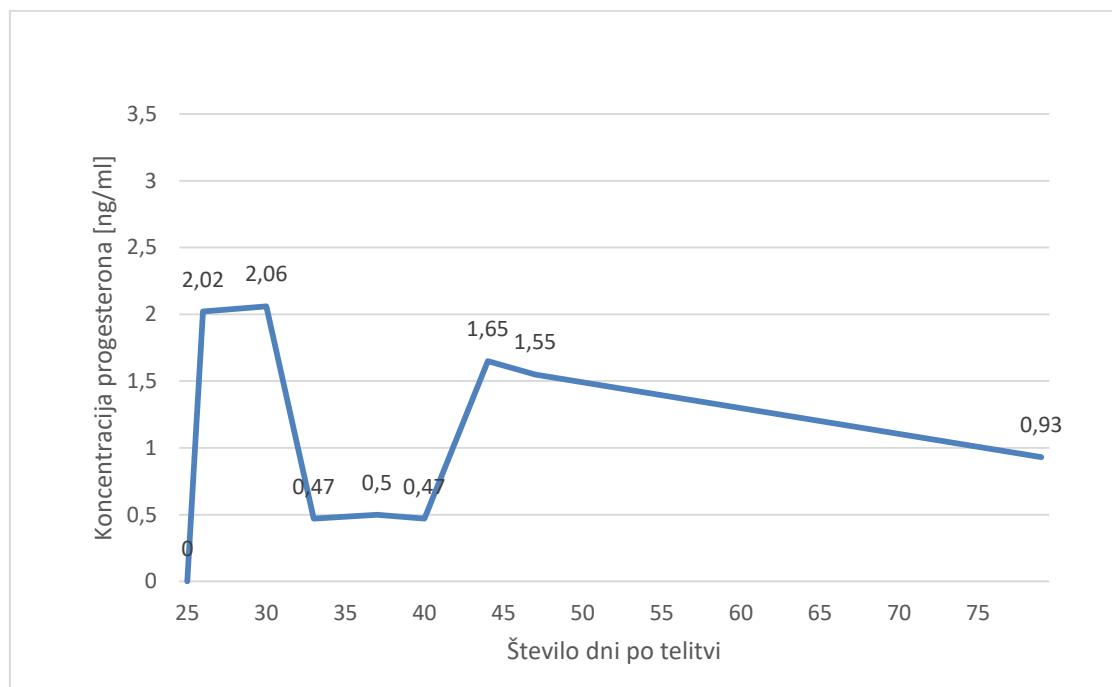


Slika 20: Koncentracija progesterona v mleku v odvisnosti od časa po telitvi za kravo 3 (poskusna skupina).  
Progesteronski profil je nepravilen.  
Figure 20: Concentration of progesterone in milk as a function of time after calving for cow 3 (experimental group). The progesterone profile is incorrect.



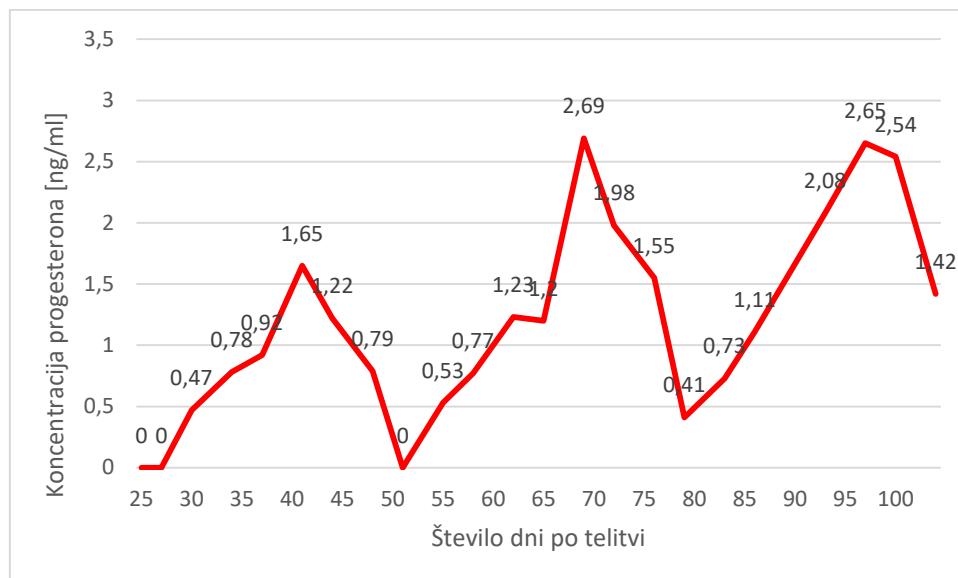
Slika 21: Koncentracija progesterona v mleku v odvisnosti od časa po telitvi za kravo 4 (poskusna skupina).  
Progesteronski profil je nepravilen.

Figure 21: Concentration of progesterone in milk as a function of time after calving for cow 4 (experimental group). The progesterone profile is incorrect.

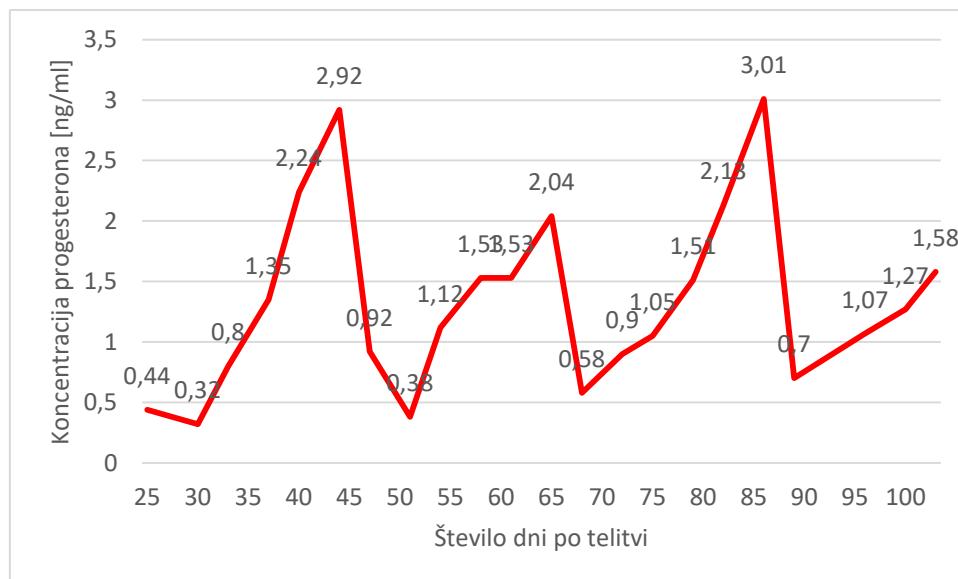


Slika 22: Koncentracija progesterona v mleku v odvisnosti od časa po telitvi za kravo 5 (poskusna skupina).  
Progesteronski profil je nepravilen.

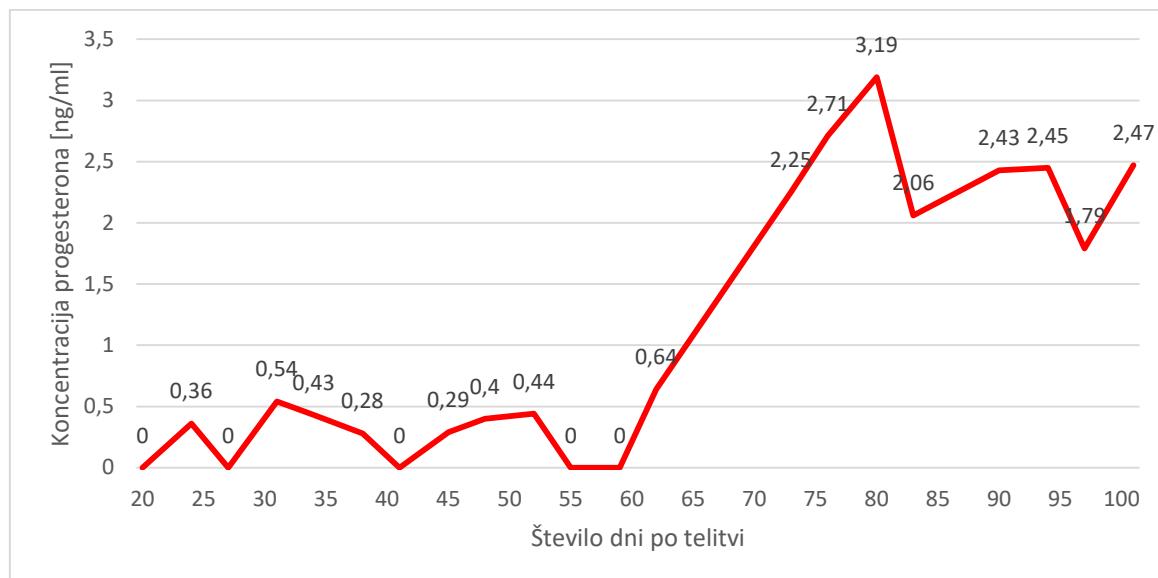
Figure 22: Concentration of progesterone in milk as a function of time after calving for cow 5 (experimental group). The progesterone profile is incorrect.



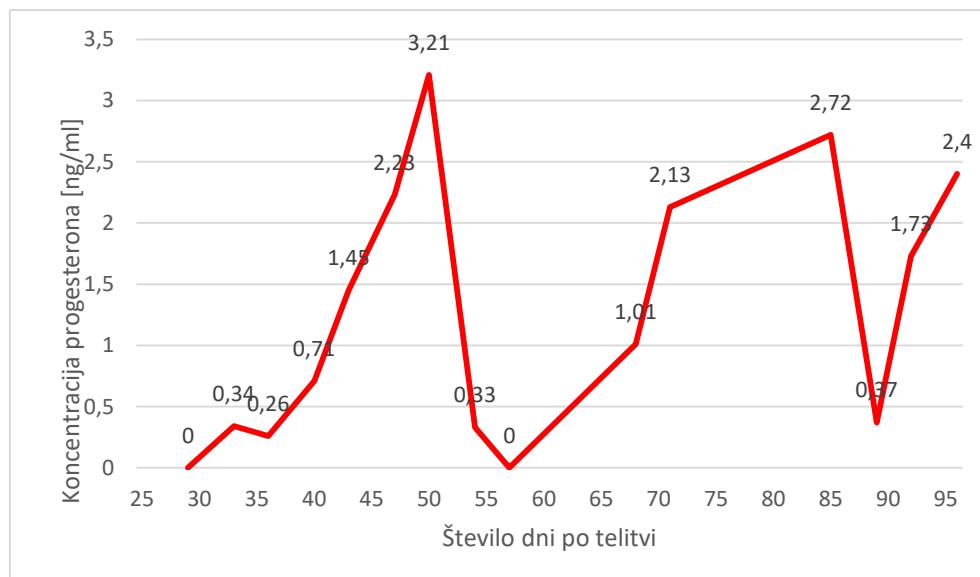
Slika 23: Koncentracija progesterona v mleku v odvisnosti od časa po telitvi za kravo 6 (kontrolna skupina).  
Progesteronski profil je pravilen.  
Figure 23: Concentration of progesterone in milk as a function of time after calving for cow 6 (control group). The progesterone profile is correct.



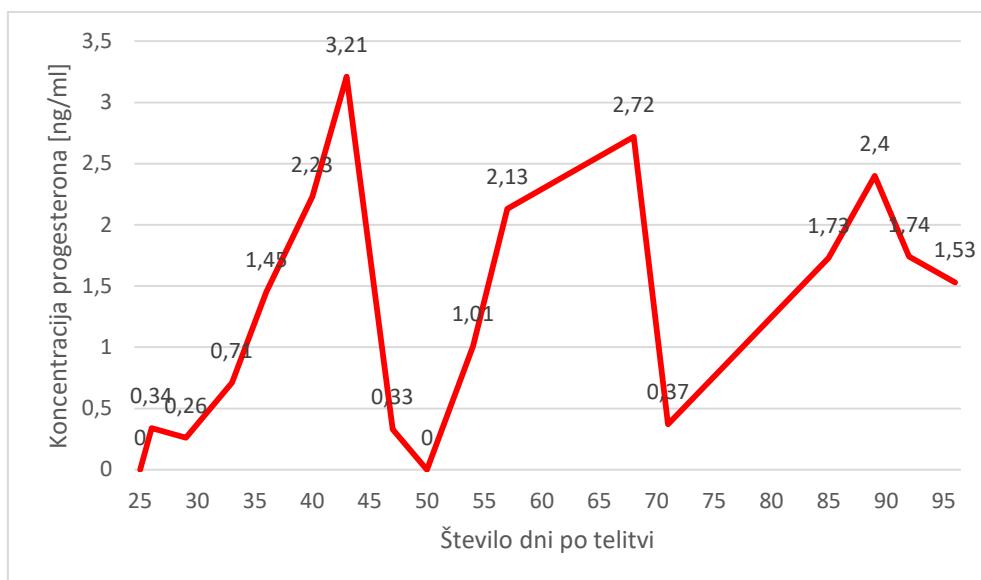
Slika 24: Koncentracija progesterona v mleku v odvisnosti od časa po telitvi za kravo 7 (kontrolna skupina).  
Progesteronski profil je pravilen.  
Figure 24: Concentration of progesterone in milk as a function of time after calving for cow 7 (control group). The progesterone profile is correct.



Slika 25: Koncentracija progesterona v mleku v odvisnosti od časa po telitvi za kravo 8 (kontrolna skupina).  
Progesteronski profil je nepravilen.  
Figure 25: Concentration of progesterone in milk as a function of time after calving for cow 8 (control group). The progesterone profile is incorrect.



Slika 26: Koncentracija progesterona v mleku v odvisnosti od časa po telitvi za kravo 9 (kontrolna skupina).  
Progesteronski profil je pravilen.  
Figure 26: Concentration of progesterone in milk as a function of time after calving for cow 9 (control group). The progesterone profile is correct.



Slika 27: Koncentracija progesterona v mleku v odvisnosti od časa po telitvi za kravo 10 (kontrolna skupina).  
Progesteronski profil je pravilen.  
Figure 27: Concentration of progesterone in milk as a function of time after calving for cow 10 (control group).  
The progesterone profile is correct.

Pri kravah, ki so bile kasneje vključene v poskus, smo gibanje progesterona spremljali krajsi čas. Progesteronski profil štirih krav v poskusni in ene krave v kontrolni skupini ni bil pravilen.

## 4.2 KLINIČNI PREGLED

### 4.2.1 Transrektalna ultrazvočna preiskava rodil

V času raziskave smo opravili dve ultrazvočni preiskavi rodil, rezultati so predstavljeni v tabeli 3.

Tabela 5: Rezultati, dobljeni pri transrektni ultrazvočni preiskavi rodil  
Table 5: Results of transrectal ultrasound examination of reproductive organs

Zap. št. krave		Prvi pregled, 22. 12. 2017	Drugi pregled, 24. 4. 2018
1	levi jajčnik	folikel $\phi$ 1,45 cm	pojatev
	desni jajčnik	rumeno telo velikosti 3x2 cm, folikel $\phi$ 1,34 cm	
	maternica	rahla hiperemija	
2	levi jajčnik	rumeno telo velikosti 2,8x1,9 cm	breja
	desni jajčnik	več manjših foliklov	
	maternica	brez posebnosti	
3	levi jajčnik	/	več manjših foliklov
	desni jajčnik	/	rumeno telo
	maternica	/	endometritis
4	levi jajčnik	več folikularnih cist $\phi$ 2,2–3,8 cm	2 folikla in mlado rumeno telo
	desni jajčnik	folikularna cista $\phi$ 2,8 cm	2 folikla
	maternica	hiperemija	brez posebnosti
5	levi jajčnik	/	2 folikularni cisti
	desni jajčnik	/	luteinske ciste
	maternica	/	brez posebnosti
6	levi jajčnik	nekaj manjših foliklov	breja
	desni jajčnik	folikel $\phi$ 2,1 cm	
	maternica	hiperemija, urovagina	
7	levi jajčnik	folikularna cista v velikosti 4x2 cm	breja
	desni jajčnik	luteiniziran folikel $\phi$ 1,3 cm	
	maternica	hiperplazija stene, gosta tekocina	
8	levi jajčnik	folikel $\phi$ 1,83 cm	breja
	desni jajčnik	2 folikla $\phi$ 1,55 in 1,7 cm	
	maternica	endometritis	
9	levi jajčnik	folikel $\phi$ 1,2 cm	breja
	desni jajčnik	rumeno telo velikosti 2,3x3 cm	
	maternica	hiperemija	
10	levi jajčnik	luteinska cista velikosti 3,5x2,2 cm	breja
	desni jajčnik	nekaj manjših foliklov	
	maternica	hiperemija in tekočina	

Legenda: 1–5: poskusna skupina; 6–10: kontrolna skupina.

Opomba: Kravi 3 in 5 sta bili naknadno vključeni v poskus, zato ni podatkov za prvi pregled.

Ob prvem pregledu sta bili dve kravi v poskusni skupini v diestrusu, ena je imela folikularno cisto. V kontrolni skupini sta bili dve kravi v proestrusu, ena v diestrusu, ena je imela folikularno cisto in luteiniziran folikel, ena luteinsko cisto. Ena krava je imela urovagino in ena endometritis.

Ob drugem pregledu je bila ena krava v poskusni skupini v pojatvi, ena je bila breja, ena v metestrusu, ena v diestrusu, ena pa je imela folikularne in luteinske ciste. Vse krave v kontrolni skupini so bile breje.

#### 4.2.2 Ocena kondicije krav

Ocene telesne kondicije krav so podane v tabeli 6.

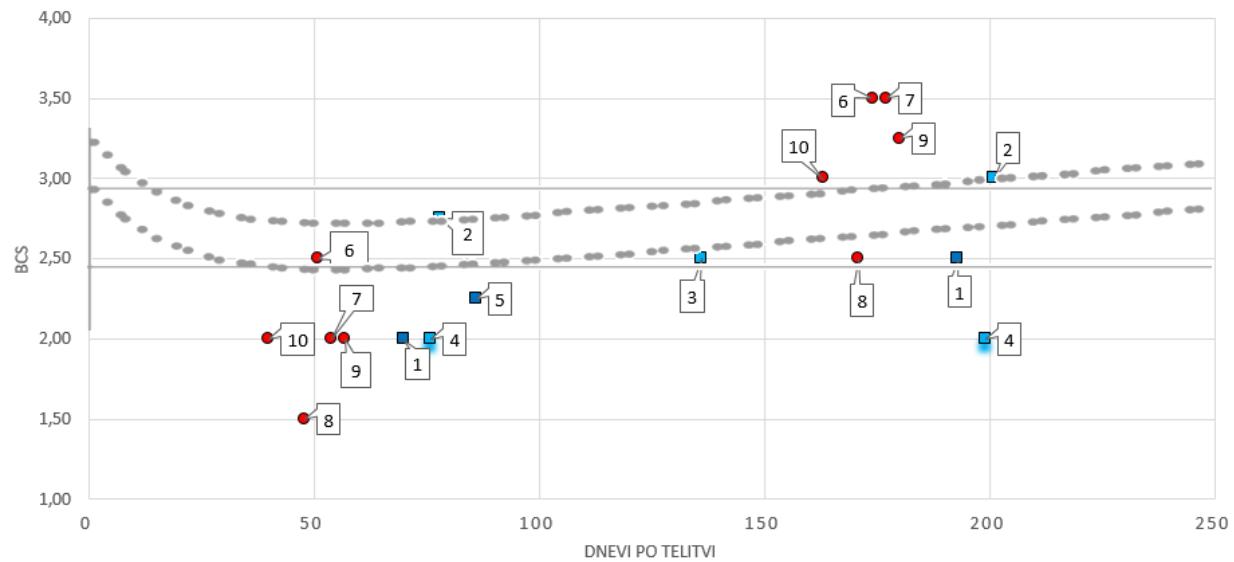
Tabela 6: BCS krav ob pregledih

Table 6: Body condition score at examinations

Zap. št. krave	Prvi pregled	Dnevi po telitvi ob prvem pregledu	Drugi pregled	Dnevi po telitvi ob drugem pregledu	Razlika BCS
1	2,00	70	2,50	193	0,50
2	2,75	78	3,00	201	0,25
3	/	13	2,50	136	/
4	2,00	76	2,00	199	0,00
5	/	/	2,25	86	/
<b>Srednja vrednost ±SD</b>	<b>2,25 ±0,43</b>		<b>2,45±0,37</b>		<b>0,25 ±0,25</b>
6	2,50	51	3,50	174	1,00
7	2,00	54	3,50	177	1,50
8	1,50	48	2,50	171	1,00
9	2,00	57	3,25	180	1,25
10	2,00	40	3,00	163	1,00
<b>Srednja vrednost ±SD</b>	<b>2,00±0,35</b>		<b>3,15±0,42</b>		<b>1,15±0,22</b>

Legenda: 1–5: poskusna skupina; 6–10: kontrolna skupina.

Opomba: Kravi 3 in 5 sta bili naknadno vključeni v poskus, zato ni podatkov za prvi pregled.



Slika 28: Spreminjanje BCS preiskovanih krav po telitvi in prikaz referenčnih vrednosti povzetih po Roche in sod. (2009). 1–5: poskusna skupina; 6–10: kontrolna skupina.

Figure 28: Changes in BCS after calving. Representation of acceptable changes in BCS after parturition (Roche et al., 2009). 1–5: experimental group; 6–10: control group.

Kravam v poskusni skupini se je kondicija pri drugem pregledu v povprečju izboljšala za 0,25 točke BCS, kravam v kontrolni skupini pa za 1,15 točke BCS. Le ena krava iz poskusne skupine je imela nihanje kondicije v okviru referenčnih vrednostih po Roche in sod. (2009).

#### 4.3 REZULTATI KONTROL MLEČNOSTI (AT4)

V tabeli 5 so prikazani rezultati kontrol mlečnosti laktacije v času raziskave za prve tri mesece po telitvi.

Tabela 7: Rezultati mlečne kontrole za prve 3 mesece po telitvi  
Table 7: Milk control results for first three months after calving

Zap. št. krave	Zap. kont. po telitvi	Mleko kg	Mašč.%	Belj.%	Lakt.%	SSCx1000	Urea mg/100ml
1	1	41,6	5,24	3,32	4,46	2599	16
	2	46,2	5,73	2,86	4,45	49	34
	3	/	/	/	/	/	/
2	1	38,5	4,96	3,18	4,79	41	22
	2	43,3	3,37	3,07	4,83	37	19
	3	/	/	/	/	/	/
3	1	/	/	/	/	/	/
	2	45,4	5,35	2,88	4,79	42	24
	3	51,6	2,82	2,93	4,67	54	20
4	1	51,6	4,01	2,96	4,55	97	17
	2	42,9	4,41	2,68	4,59	122	19
	3	/	/	/	/	/	/
5	1	50,8	4,19	2,68	4,32	54	24
	2	47,6	3,23	2,57	4,24	68	21
	3	47,4	3,29	2,6	4,23	35	24
<b>Tehtano povprečje (Min. in maks. vrednost)</b>		<b>46,1 (38,5-51,6)</b>	<b>4,19 (2,82-5,73)</b>	<b>2,87 (2,57-3,32)</b>	<b>4,53 (4,23-4,83)</b>	<b>269 (35-2599)</b>	<b>21,9 (16-34)</b>
6	1	51,9	2,97	2,98	4,84	29	25
	2	/	/	/	/	/	/
	3	45,2	3,69	3,24	4,82	46	27
7	1	47,6	4,78	3,14	4,88	25	20
	2	/	/	/	/	/	/
	3	34,2	4,9	3,51	4,76	30	23
8	1	45,8	4,73	2,98	4,52	26	19
	2	/	/	/	/	/	/
	3	43	4,25	3,23	4,61	116	24
9	1	42,5	4,21	3,15	4,81	41	13
	2	/	/	/	/	/	/
	3	35,4	3,8	3,56	4,74	77	19
10	1	36,2	6,08	3,72	4,44	406	17
	2	/	/	/	/	/	/
	3	37,6	4,61	3,6	4,54	358	19
<b>Tehtano povprečje (Min. in maks. vrednost)</b>		<b>41,9 (34,2-51,9)</b>	<b>4,34 (2,97-6,08)</b>	<b>3,28 (2,98-3,72)</b>	<b>4,70 (4,44-4,88)</b>	<b>106 (25-406)</b>	<b>20,8 (13-27)</b>

Legenda: 1–5: poskusna skupina; 6–10: kontrolna skupina.

Opomba: \* kontrole mlečnosti ni bilo.

Pri primerjavi podatkov kontrol mlečnosti poskusne in kontrolne skupine krav smo pri kontrolni skupini ugotovili numerično manjšo mlečnost (v povprečju za 4,2 kg na dan), razlika ni bila statistično značilna ter statistično značilno večjo vsebnost beljakovin v mleku ( $p=0,002$ ). Vrednosti ostalih parametrov se niso statistično značilno razlikovale med skupinama.

#### 4.4 USPEŠNOST REPRODUKCIJE

Tabela 8: Uspešnost reprodukcije v predhodni laktaciji in laktaciji v času poskusa

Table 8: Reproduction performance in previous lactation and in the lactation during the experiment

Zap. št. krave	Uspešnost reprodukcije pred poskusom					Uspešnost reprodukcije v času poskusa					
	SI	SP	PP	IO	DMT	Zap. laktacij a	SI	SP	PP	IO	DMT
<b>1</b>	107	147	254	4	531	5	101	92*	193*	3*	478*
<b>2</b>	25	198	260	6	539	2	56	0	56	1	341
<b>3</b>	120	146	266	3	544	4	76	162	238	3	523
<b>4</b>	145	0	145	1	425	6	134	60*	194*	3*	479*
<b>5</b>	49	0	49	1	330	2	57	78	135	2	420
Srednja vrednost $\pm SD$	<b>96,6</b> $\pm 40,2$	<b>98,2</b> $\pm 92,1$	<b>194,8</b> $\pm 95,6$	<b>3,0</b> $\pm 2,1$	<b>473,8</b> $\pm 94,2$	<b>3,8</b> $\pm 1,8$	<b>84,8</b> $\pm 33,0$	<b>78,4</b> $\pm 58,4$	<b>163,2</b> $\pm 70,2$	<b>2,4</b> $\pm 0,9$	<b>448,2</b> $\pm 70,2$
<b>6</b>	76	46	122	2	401	2	79	1	80	2	365
<b>7</b>	61	0	61	1	339	2	76	239*	315*	4*	363*
<b>8</b>	69	20	89	2	366	3	61	0	61	1	346
<b>9</b>	52	48	100	2	380	2	88	0	88	1	373
<b>10</b>	61	23	84	3	365	3	46	24	70	2	355
Srednja vrednost $\pm SD$	<b>63,8</b> $\pm 9,1$	<b>27,4</b> $\pm 20,0$	<b>91,2</b> $\pm 22,3$	<b>2,0</b> $\pm 0,7$	<b>370,2</b> $\pm 22,7$	<b>2,4</b> $\pm 0,5$	<b>70,0</b> $\pm 16,6$	<b>52,8</b> $\pm 104,$ <b>6</b>	<b>122,8</b> $\pm 107,9$	<b>2,0</b> $\pm 1,2$	<b>360,4</b> $\pm 10,3$

Legenda: 1–5: poskusna skupina; 6–10: kontrolna skupina.

Opomba: \*izločena 2 meseca po zadnji osemenitvi.

Krave v poskusni skupini so imele v predhodni laktaciji numerično slabšo uspešnost reprodukcije kot krave v kontrolni skupini: povprečna dolžina SI, SP, poporodnega premora, indeksa osemenitve in dobe med dvema telitvama je bila daljša pri kravah v poskusni skupini. Tudi v sedanji laktaciji so bile povprečne vrednosti vseh zgoraj naštetih parametrov višje pri kravah v poskusni skupini.

Pri statistični primerjavi podatkov nismo ugotovili statistično značilnih razlik med obema skupinama krav v sedanji in predhodni laktaciji.

## 5 **RAZPRAVA**

### 5.1 LABORATORIJSKE PREISKAVE

#### 5.1.1 Preiskava krvi

AST se nahaja v jetrih in v skeletni ter srčni mišičnini. Povečana aktivnost AST je največkrat znak akutne ali kronične bolezni jeter. V večini primerov je povezana s sindromom zamaščenih jeter, slabim apetitom in pojavom ketoze. Vrednost AST je v času od 10 do 45 dni po telitvi višja kot kasneje v laktaciji. Povečana aktivnost AST je občutljiv pokazatelj, ki nakazuje poškobe jeter, tudi če so te poškodbe subklinične narave (Stojević in sod., 2005). Vrednosti, izmerjene v naši raziskavi, so bile pri dveh kravah v kontrolni skupini nekoliko višje od referenčnih vrednosti, kar kaže na večjo obremenjenost jeter. Vrednosti AST pri kravah v poskusni skupini so bile v mejah referenčnih vrednosti.

Zvišana vsebnost celotnih serumskih beljakovin (CSB) nakazuje na vnetje, zlasti kadar se poveča koncentracija globulinov. Zožana vrednost razmerja med albumini in globulini nakazuje na kronično vnetje. Pri eni kravi v poskusni skupini smo pri obeh odvzemih ugotovili zvišano vsebnost CSB in znižano vrednost razmerja med albumini in globulini, zato sklepamo na možno prisotnost kroničnega vnetja. Krava je imela 6 dni pred prvim jemanjem krvi mastitis, kar bi lahko vplivalo na ugotovljeno odstopanje. Vsebnost albuminov je bila zvišana pri 8 od 10 krav vsaj pri enem od odvzemov (3 krave v poskusni skupini ter vse krave v kontrolni skupini). Zvišana vsebnost albuminov nakazuje na hemokoncentracijo, najpogosteje v povezavi z dehidracijo krav, kar je zanimivo, saj so imele vodo za pitje stalno na voljo v ustreznih koritih za napajanje, s primernim dostopom in prostorom v okolini napajalnika.

Povišana vsebnost BHB je znak (subklinične) ketoze oz. NEB (Ježek in sod., 2017). Vsebnost BHB je bila pri enem od merjenj nekoliko povisana pri dveh kravah v kontrolni skupini in zmerno povisana pri obeh merjenjih pri eni kravi v poskusni skupini. Rahlo povisanje vrednosti BHB pri dveh kravah kaže na NEB. Sklepamo, da je bila krava iz poskusne skupine, ki je imela pri obeh merjenjih zmerno povisano vrednost BHB, dlje časa v subklinični ketozi. Pri kliničnem pregledu smo ugotovili, da se ji je ocena kondicije (BCS) v 4 mesecih izboljšala le za 0,5 točke. To bi bil lahko razlog za nepravilen progesteronski profil in neuspešne osemenitve. Vrednosti

BHB vseh ostalih merjenj so bile v mejah referenčnih vrednosti, torej krave na splošno niso imele težav z NEB.

Pomanjkanje beta-karotenov vpliva predvsem na slabšo plodnost krav in pogostejše pojavljanje endometritisov (Dirksen in sod., 2006). Znižane vrednosti beta-karotena smo ugotovili pri eni kravi v poskusni skupini ter pri treh kravah v kontrolni skupini. Krava v kontrolni skupini, ki je imela pri obeh merjenjih prenizko vsebnost beta-karotena, je imela pri prvem pregledu endometritis in ni imela fiziološkega progesteronskega profila, a je vseeno ostala breja ob prvi osemenitvi ( $DMT=346$  dni). Ostali dve kravi v kontrolni skupini sta imeli pri vsaj enim merjenju vrednost beta-karotenov znižano, a sta imeli fiziološki progesteronski profil. Tudi pregled ni pokazal endometritisa in obe sta se obrejili ( $DMT=373$  in  $355$  dni). Možna razloga, da so krave kljub nižji vrednosti beta-karotenov ostale breje, je, da se vrednost beta-karotenov ob telitvi in v poporodnem obdobju (1 mesec) fiziološko zniža, kasneje pa se zopet zviša (Johansson in sod., 2014) in so bile nizke vrednosti beta-karotena, ki smo jih ugotovili, predvsem posledica fiziološkega dogajanja in ne pomanjkanja beta-karotena v krmi.

Dve kravi v poskusni in štiri krave v kontrolni skupini so imele pri vsaj enim odvzemu povišano vsebnost anorganskega fosforja (aP). Vsebnost aP v krvnem serumu je povezana s količino fosforja v krmi (Jazbec, 1990d). Hiperfosfatemija je lahko tudi posledica hemokoncentracije, zmanjšanega delovanja ledvic ali propada celic (tudi hemoliza) (Gruenberg, 2019). Pri mladih živalih je koncentracija aP fiziološko višja (Palmer in sod., 1930). Vse krave v našem poskusu so bile starejše od dveh let, tako da starost ni vplivala na višjo vsebnost aP in bi lahko šlo za vpliv prehrane. Palmer in sod. (1930) so dokazali tudi, da vrednost aP pri posameznih osebkih dnevno niha in da koncentracija aP ni enaka niti ob istih urah jemanja krvi in se poviša po fizični aktivnosti krav. Glede na to, da kravam nismo jemali krvi vedno ob točno določenih urah in da so se krave pred jemanjem krvi lahko prosto gibale, bi lahko tudi to vplivalo na povišane vrednosti aP.

Pri dveh kravah v kontrolni skupini je bila koncentracija kalija povišana, ultrazvočni pregled ni pokazal nobenih posebnosti, obe sta ostali breji pri prvi osemenitvi. Koncentracije kalija v poskusni skupini so bile pri vseh kravah v mejah referenčnih vrednosti. Kalij sodeluje pri uravnavanju acidobaznega ravnotežja, pri presnovi beljakovin, ogljikovih hidratov in pri porazdelitvi vode med celičnim in izvenceličnim prostorom (Jazbec, 1990c). Hiperkaliemija je največkrat posledica acidoze ali prevelikega vnosa kalija v telo (presežek v krmi). Presežek K

v krmi krav povzroča plodnostne motnje, pogosteje pojavljanje poporodne hipokalcemije, zavira resorpcijo magnezija iz vampa in s tem povečuje potrebe po magneziju, zavira tudi resorpcijo Na, povzroča obsežne edeme vimena, povečano izločanje urina in zato večje potrebe po vodi (Suttle, 2010c).

### **5.1.2 Preiskava mleka**

Koncentracija progesterona v mleku niha glede na pojatveni ciklus. Visoka je v času prisotnosti rumenega telesa, nizka pa v njegovi odsotnosti (Šlamberger Kranjc, 2014). Torej ob luteolizi koncentracija progesterona pada, po ovulaciji se formira novo rumeno telo in koncentracija se ponovno zviša (O'Connor, 2016).

Kadar se koncentracija progesterona fiziološko spreminja skozi ciklus, je progesteronski profil pravilen (Podpečan, 2005). Krava je normalno ciklična, torej prihaja v estrus. Ob osemenitvi lahko ostane breja. Ena krava v poskusni skupini in štiri krave v kontrolni skupini so imele pravilen progesteronski profil, ostale pa so imele nepravilnega. Vse krave, ki so imele pravilen progesteronski profil, so ostale breje, prav tako ena z napravilnim profilom iz kontrolne skupine.

Kadar se koncentracija progesterona ne spreminja ali se nepravilno spreminja skozi ciklus, gre za nepravilen progesteronski profil (Podpečan, 2005). Če na jajčniku ni rumenega telesa ali v primeru prisotnosti folikularnih cist na jajčniku, so koncentracije progesterona stalno nizke, ker ni njegove tvorbe. Stalno visoke koncentracije kažejo, da ni prišlo do luteolize (luteinske ciste, perzistirajoče rumeno telo). Nepravilen progesteronski profil je lahko posledica NEB ali drugih motenj oz. bolezni. Pri eni kravi z nefiziološkim progesteronskim profilom v poskusni skupini je bila koncentracija progesterona stalno nizka, z ultrazvočnim pregledom smo diagnosticirali folikularne ciste. Ta krava je imela povišane vrednosti BHB, vseskozi slabšo kondicijo in ni ostala breja.

Merjenje progesterona v mleku se je izkazalo za uporabno metodo za ugotavljanje cikličnosti oziroma necikličnosti krav, saj je vzorčenje enostavno, lahko ga izvedejo rejci sami in za živali ne predstavlja dodatnega stresa. Spreminjanje koncentracije progesterona v mleku se je ujemalo z ugotovitvami kliničnega pregleda rodil.

## 5.2 KLINIČNI PREGLED

### 5.2.1 Transrektalna ultrazvočna preiskava rodil

Z ultrazvočno preiskavo rodil lahko ocenimo, ali je žival ciklična, in diagnosticiramo morebitno patologijo maternice in jajčnikov, potrujemo brejost in drugo (Colazo in sod., 2010). Ultrazvočna preiskava rodil se je izkazala kot zelo uporabna metoda pri vrednotenju in ugotavljanju razlogov za nepravilen progesteronski profil, saj smo lahko odkrili patološko dogajanje na maternici in jajčnikih.

### 5.2.2 Ocena kondicije krav

Tako po telitvi krave molznice ne pokrivajo energijskih potreb za priejo mleka in zato črpajo telesne rezerve. S črpanjem rezerv se njihova kondicija zmanjšuje, vendar to zmanjšanje ne sme biti večje od 0,75 točke (Orešnik in Kermauner, 2009a; Roche in sod., 2009). Bolj verjetno je, da imajo krave v slabši kondiciji ob telitvi (pod 3,00 BCS) podaljšano poporodno anestrijo in manjšo verjetnost obrejitve (Roche in sod., 2009). Krave v kontrolni skupini so imele v povprečju pri prvem pregledu slabšo kondicijo, vendar so se kasneje v primerjavi s poskusno skupino bolj zredile. Te krave so tudi ostale breje. Edina krava v poskusni skupini, ki je ostala breja, je imela spremembo kondicije v mejah referenčnih vrednosti (Roche in sod., 2009), kar je lahko razlog, da je imela pravilen progesteronski profil in da je ostala breja. Krave v kontrolni skupini so se kjub večjim spremembam v kondiciji obrejile. Možno je, da so bile krave v poskusni skupini zaradi nekoliko večje količine mleka bolj obremenjene, kar bi bil lahko razlog, zakaj se niso zredile toliko kot krave v kontrolni skupini.

## 5.3 REZULTATI KONTROL MLEČNOSTI (AT4)

Krave v poskusni skupini so imele numerično večjo mlečnost kot krave v kontrolni skupini, vendar razlika ni bila statistično značilna. Juchem in sod. (2008) pri krmljenju krav s 1,9 g kalcijevih soli palmovega olja na kg krme do 145 dneva po telitvi niso ugotovili vpliva na mlečnost. Mattos in sod. (2002) niso dokazali razlik v mlečnosti krav, krmljenih z 2,6–7,8 %

suhe snovi ribje moke (palmitinska, oleinska in 6,9-oktadekadienojska kislina, 0,57–1,74 % EPA, 0,46–1,4 % DHA). Podobno so pri krmljenju z 2 % kalcijevih soli palmovega olja v suhi snovi ali linolne in oleinske kisline od 25. do 80. dneva po telitvi ugotovili tudi Cerri in sod. (2009). Dirandeh in sod. (2013) so tudi ugotovili, da krmljenje z 1,5 % suhe snovi soje, lanenega semena ali palmovega olja ne vpliva na mlečnost krav.

Po drugi strani pa nekateri avtorji opisujejo izboljšanje mlečnosti krav po dodajnju maščobnih kislin v obrok: Garcia-Bojalil in sod. (1998) so dokazali, da dodatek 2,2 % kalcijevih soli maščobnih kislin (palmitinska in oleinska maščobna kislina) v suhi snovi obroka po 20. dnevu po telitvi izboljša mlečnost za 2 kg na dan. Heravi Moussavi in sod. (2007) so pri krmljenju s 5 % ribje moke ali 2,3 % kalcijevih soli ribjega olja v suhi snovi dokazali večjo mlečnost krav. Tudi Zachut in sod. (2010) so pri krmljenju z 1 kg ekstrudiranega lanenega semena na dan, ki vsebuje linolensko kislino, dokazali za 6,4 % večjo mlečnost. Petit in sod. (2004) so dokazali večjo mlečnost pri krmljenju krav z 9 % lanenega semena v suhi snovi (32,1 kg/d) in 4,6 % kalcijevih soli palmovega olja v suhi snovi (31,5 kg/d) v primerjavi s kontrolno skupino (24,8 kg/d). Schneider in sod. (1988) so dokazali, da se pri krmljenju s 500 g kalcijevih soli maščobnih kislin dnevno zveča mlečnost (poskusna skupina 36,2 kg/d, kontrolna skupina 34,5 kg/d).

V naši raziskavi nismo ugotovili statistično značilne razlike med skupinama. Glede na to, da se mlečnost krav iz laktacije v laktacijo povečuje do 5. laktacije in glede na to, da krave, vključene v poskus, niso bile v enakih zaporednih laktacijah ne moremo sklepati o pozitivnem vplivu dodatka na mlečnost.

V naši raziskavi smo ugotovili statistično nižjo vsebnost beljakovin mleka pri kravah v poskusni skupini ( $p=0,002$ ). Podobno so ugotovili tudi Garcia-Bojalil in sod. (1998) pri krmljenju z 2,2 % suhe snovi kalcijevih soli maščobnih kislin (palmitinske in oleinske maščobne kisline). Petit in sod. (2004) so tudi dokazali, da je vsebnost beljakovin v mleku nižja pri kravah, krmljenih z dodatkom kalcijevih soli palminega olja (3,68 %) v primerjavi s kontrolno skupino (3,92 %). Tudi Juchem in sod. (2008) so pri krmljenju krav s 1,9 g kalcijevih soli palmovega olja na kg krme do 145 dneva po telitvi dokazali zmanjšano vsebnost beljakovin v mleku. Nasprotno so dokazali Mattos in sod. (2002). Pišejo, da se koncentracija beljakovin v mleku linearno povečuje s povečevanjem deleža ribje moke (0 %, 2,6 %, 5,2 % in 7,8 % suhe snovi). Povišanje vsebnosti beljakovin v mleku pripisujejo povišanju deleža beljakovin v krmnem dodatku (ribja

moka), ki zaobidejo prebavo v vampu (RUP; rumen undegradable protein), torej ne PUFA. Cerri in sod. (2009) so ob krmljenju z linolno in linolensko kislino ugotovili višjo vsebnost beljakovin v mleku ob enaki mlečnosti in zmanjšani vsebnosti maščobe. Po drugi strani pa Dirandeh in sod. (2013) opisujejo, da se pri krmljenju z 1,5 % suhe snovi soje, lanenega semena ali palmovega olja vsebnost beljakovin v mleku ni razlikovala med skupinami.

Menimo, da bi bila nižja vsebnost beljakovin pri kravah v poskusni skupini v naši raziskavi lahko v povezavi z nekoliko večjo mlečnostjo.

Vsebnosti maščobe v mleku v naši raziskavi se niso statistično značilno razlikovale med skupinama. To se sklada z ugotovitvami raziskave Garcia-Bojalila in sod. (1998), ki pri krmljenju krav z 2,2 % suhe snovi kalcijevih soli maščobnih kislin (palmitinske in oleinske) prav tako niso ugotovili vpliva na vsebnost maščobe v mleku. Tudi Petit in sod. (2004) opisujejo podobne vsebnosti mlečnih maščob ne glede na obrok. Nasprotno dokazujejo Zachut in sod. (2010), ki opisujejo, da se je pri krmljenju z 1 kg ekstrudiranega lanenega semena dnevno ob večji mlečnosti za 11 % zmanjšala vsebnost maščobe v mleku. Tudi Cerri in sod. (2009) so ugotovili zmanjšanje vsebnosti maščobe v mleku ob krmljenju z linolno in linolensko kislino (ob višji vsebnosti beljakovin v mleku ter enaki mlečnosti). Do podobnih rezultatov so prišli tudi Dirandeh in sod. (2013), ki so pri krmljenju z 1,5 % suhe snovi lanenega semena ugotovili nižjo vsebnost maščob v mleku (ob enaki mlečnosti in vsebnosti beljakovin).

#### 5.4 USPEŠNOST REPRODUKCIJE

Krave v poskusni skupini so imele v sedanji laktaciji kjub prehranskemu dodatku, ki naj bi izboljšal njihovo plodnost, povprečne vrednosti vseh reprodukcijskih parametrov numerično slabše v primerjavi s kontrolno skupino, a statističnih razlik med skupinama ni bilo.

Tudi nekateri avtorji so dobili podobne rezultate. Schingoethe in Casper (1991) sta ugotovila, da krmljenje s semenami oljnih rastlin ni vplivalo na indeks osemenitve. Tudi Carroll in sod. (1990) in Jerred in sod. (1990) so dokazali, da krmljenje inertnih maščob ne izboljša plodnostnih parametrov krav.

Drugi avtorji (Cerri in sod., 2009; Fuentes in sod., 2008) so dokazali, da dodajanje maščob v obrok izboljša reprodukcijske parametre. Cerri in sod. (2009) so krave krmili z 2 % suhe snovi

kalcijevih soli palmovega olja ali linolne in oleinske kisline od 25. do 80. dneva po telitvi. Krmljenje linolne in oleinske kisline je vplivalo na boljšo oploditev jajčnih celic ter izboljšalo kakovost zarodkov v primerjavi s skupino, krmljeno s kalcijevimi solmi palmovega olja (Fuentes in sod., 2008).

Zanimivi so rezultati drugih raziskav, ki so poleg poslabšanja reprodukcijskih parametrov dokazali tudi izboljšanje mlečnosti krav. Erickson in sod. (1992) so dokazali, da krmljenje s 3 % suhe snovi kalcijevih soli poslabša plodnost (delež brejih krav ob koncu poskusa: kontrolna skupina 45 %, poskusna skupina 10 %) in hkrati vpliva na večjo mlečnost krav (kontrolna skupina 32,5 kg/d; poskusna skupina 34,8 kg/d). Tudi Sklan in sod. (1994) so dobili podobne rezultate pri krmljenju z 2 % suhe snovi kalcijevih soli maščobnih kislin, vendar le pri prvesnicah (mlečnost v poskusni skupini 30,9 kg/d, kontrolna skupina 26,4 kg/d; delež brejosti krav ob prvi osemenitvi: kontrolna skupina 74 %, poskusna skupina 33 %).

Schneider in sod. (1988) so dokazali, da se pri krmljenju s 500 g kalcijevih soli maščobnih kislin dnevno zveča mlečnost (poskusna skupina 36,2 kg/d, kontrolna skupina 34,5 kg/d), pozitivnega vpliva na uspešnost reprodukcije niso dokazali. Staples in sod. (1998) razlagajo, da je povečana mlečnost ob krmljenju dodatkov maščobnih kislin v obratnem sorazmerju s plodnostjo.

Čeprav nismo ugotovili izboljšanja parametrov reprodukcije v poskusni skupini krav, zaradi izbire neenakovrednih skupin krav (krave v poskusni skupini so imele že v predhodni laktaciji slabšo uspešnost reprodukcije v primerjavi s kontrolno skupino, krave v poskusni skupini so bile starejše v primerjavi s kontrolno skupino, določeni rezultati v raziskavi manjkajo zaradi zamenjave krav v poskusni skupini, rezultate majhnih skupin je težje statistično ovrednotiti, saj se bolj izrazijo individualne razlike med živalmi) ne moremo z gotovostjo trditi, da dodajanje omega-3 in omega-6 maščobnih kislin ne izboljša reprodukcijske sposobnosti krav. Tudi že obstoječa literatura si je nasprotuječa. Potrebne bodo nadaljnje raziskave na večjem številu krav in s primerljivo poskusno in kontrolno skupino živali, da bi ugotovili, ali dodajanje omega-3 in omega-6 maščobnih kislin vpliva na reprodukcijsko sposobnost krav.

## **6        SKLEPI**

V raziskavi nismo dokazali pozitivnega vpliva dodajanja omega-3 in omega-6 maščobnih kislin na reproduksijsko sposobnost krav. Zaradi potencialnih drugih vplivov na plodnost in neenakovrednosti poskusne in kontrolne skupine hipoteze ne moremo niti potrditi niti ovreči. Za ovrednotenje učinka krmljenja z omega-3 in omega-6 maščobnimi kislinami na reproduksijsko sposobnost krav bi bile potrebne nadaljnje raziskave z večjim številom krav v enakovrednih skupinah.

V raziskavi smo ugotovili statistično neznačilno večjo mlečnost pri kravah, ki so prejemale dodatek omega-3 in omega-6 maščobnih kislin. Kljub numerično večji mlečnosti v poskusni skupini krav se ni povečal delež krav z NEB v primerjavi s kontrolno skupino.

Potrdili smo, da je merjenje progesterona v mleku uporabna metoda za določanje progesterona in spremljanje ciklusa pri kravah.

## 7 **ZAHVALE**

V prvi vrsti gre zahvala mentorjem, izr. prof. dr. Janku Mrkunu in doc. dr. Jožici Ježek s Klinike za reprodukcijo in velike živali Veterinarske fakultete Univerze v Ljubljani. Hvala za številne koristne nasvete in popravke pri pisanju naloge ter za spodbude k zaključku začetega projekta. Hvala za ponujeno priložnost za izdelavo raziskovalne naloge. Hvala osebju v Laboratoriju za klinično patologijo za pomoč in predajanje znanja.

Posebna zahvala gre tudi podjetju Jata Emona, d. o. o., ki je priskrbelo krmni dodatek in financiralo preiskave. Hvala g. Evgenu Kosmaču za dovoljenje za sodelovanje v projektu.

Hvala tudi lastniku kmetije, ki je posredoval vse podatke, ki smo jih potrebovali za izdelavo naloge. Hvala za dovoljenje, da smo lahko na vaši kmetiji izvedli poskus.

Hvala prijateljem in družini za to, da vedno stojijo ob strani, spodbujajo, vlivajo pogum in podpirajo pri vseh odločitvah.

Hvala tudi fantu Urbanu, ki me vedno spravi v dobro voljo.

Hvala tudi lektorici Nataši Jezeršek Triler, profesorici slovenščine, za čas in potrpljenje pri lektoriranju te naloge.

Hvala Niki Verlič za lektoriranje angleškega besedila.

Hvala mag. Giti Grečs-Smole, dr. vet. med., za pomoč pri citiranju virov.

## 8 LITERATURA

- Abdela N. Sub-acute ruminal acidosis (SARA) and its consequence in dairy cattle: a review of past and recent research at global prospective. *Archieve Life Sci* 2016; 10: 187–96.
- Ahmed M, Chowdhury MK, Rahman MM, Bhattacharjee, Bhuiyan MMU. Relationship of electrical resistance of vaginal mucus during oestrus with post-AI pregnancy in cows. *Bangl J Vet Med* 2017; 15(2): 113–7.
- Ball PJH, Peters AR. Reproduction in cattle. 3rd ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2004: 46.
- Beam SW, Butler WR. Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *J Reprod Fertil* 1999; 54: 411–24.
- Burke JM, Staples CR, Risco CA, De la Sota RL, Thatcher WW. Effect of ruminant grade menhaden fish meal on reproductive and productive performance of lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 1997; 80: 3386–98.
- Butler WR, Calaman JJ, Beam SW. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. *J Anim Sci* 1996; 74: 858–65.
- Butler WR. Nutritional effects on resumption of cyclicity and conception rate in postpartum dairy cows. *BSAP occasional Publication* 2001; 26: 133–45.
- Carroll DJ, Jerred MJ, Grummer RR, Combs DK, Rierson RA, Hauser ER. Effects of fat supplementation and immature alfalfa to concentrate ratio on plasma progesterone, energy balance, and reproductive traits of dairy cattle. *J Dairy Sci* 1990; 73: 2855–63.
- Cerri RLA, Bruno RGS, Chebel RC, et al. Effect of fat source differing in fatty acid profile on metabolic parameters, fertilization, and embryo quality in high-producing dairy cows. *J Dairy Sci* 2009; 92: 1520–31.
- Chagas LM, Bass JJ, Blache D, et al. Invited review: New perspectives on the roles of nutrition and metabolic priorities in the subfertility of high-producing dairy cows. *J Dairy Sci* 2007; 90: 4022–32.

Clarke SD, Jump DB. Polyunsaturated fatty acid regulation of hepatic gene transcription. *Lipids* 1996; 31: 7–11.

Colazo MG, Ambrose DJ, Kastelic JP, Small JA. Comparison of 2 enzyme immunoassays and a radioimmunoassay for measurement of progesterone concentrations in bovine plasma, skim milk, and whole milk. *Can J Vet Res* 2008; 72(1): 32–6.

Colazo MG, Ambrose DJ, Kastelic JP. Practical uses for transrectal ultrasonography in reproductive management of cattle. In: Proceedings of the 26th World Buiatrics Congress. Santiago: Chilean Buiatrics Society, 2010: 146–56.

Corey EJ, Shih C, Cashman JR. Docosahexaenoic acid is a strong inhibitor of prostaglandin but not leukotriene biosynthesis. *Proc Nat Acad Sci USA* 1983; 80: 3581–4.

De Ondarza MB, Wilson JW, Engstrom M. Case study: effect of supplemental beta-carotene on yield of milk and milk components and on reproduction of dairy cows. *Prof Anim Sci* 2009; 25: 510–6.

Delaby L, Faverdin P, Michel G, Disenhaus C, Peyraud JL. Effect of different feeding strategies on lactation performance of Holstein and Normande dairy cows. *Animal* 2009; 3: 891–905.

Dirandeh E, Towhidi A, Zeinoaldini S, Ganjkhanlou M, Ansari Pirsaraei Z, Fouladi-Nashta A. Effects of different polyunsaturated fatty acid supplementations during the postpartum periods of early lactating dairy cows on milk yield, metabolic responses, and reproductive performances. *J Anim Sci* 2013; 91: 713–21.

Dirksen G, Gründer HD, Stöber M. Innere Medizin und Chirurgie des Rindes. 5 Aufl. Parey: Stuttgart, 2006: 1991–5.

Domecq JJ, Skidmore AL, Lloyd JW, Kaneene JB. Relationship between body condition scores and milk yield in a large dairy herd of high yielding Holstein cows. *J Dairy Sci* 1997; 80: 101–12.

Drackley JK. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *J Dairy Sci* 1999; 82: 2259–73.

Drackley JK. Overview of fat digestion and metabolism in dairy cows. Urbana, Illinois: University, 2007: 1–9.

<http://livestocktrail.illinois.edu/uploads/dairynet/papers/Overview%20of%20Fats%2004.pdf>  
(21. okt 2018)

Edmonson AJ, Lean IJ, Weaver LD, Farver T, Webster G. A body condition scoring chart for holstein dairy cows. *J Dairy Sci* 1989; 72: 68–78.

Erickson PJ, Murphy MR, Clark JH. Supplementation of dairy cow diets with calcium salts of longchain fatty acids and nicotinic acid in early lactation. *J Dairy Sci* 1992; 75: 1078–89.

Ferguson JD, Sklan D, Chalupa WV, Kronfeld DS. Effects of hard fats on in vitro and in vivo rumen fermentation, milk production, and reproduction in dairy cows. *J Dairy Sci* 1990; 73: 2864–79.

Ferguson JD. Body condition scoring. In: Proceedings of the 2002 Texas Animal Nutrition Council. Grapevine: Texas Animal Nutrition Council, 2002: 8 str.

<https://www.txanc.org/proceedings.aspx> (22. okt. 2018)

Fuentes MC, Calsamiglia S, Sánchez C, et al. Effect of extruded linseed on productive and reproductive performance of lactating dairy cows. *Livest sci* 2008; 113: 144–54.

Garcia-Bojalil CM, Staples CR, Risco C A, Savio JD, Thatcher WW. Protein degradability and calcium salts of long-chain fatty acids in the diets of lactating dairy cows: productive Responses. *J Dairy Sci* 1998; 81:1374–84.

Gearhart MA, Curtis CR, Erb HN, et al. Relationship of changes in condition score to cow health in Holsteins. *J Dairy Sci* 1990; 73: 3132–40.

Gillund P, Reksen O, Grohn YT, Karlberg K. Body condition related to ketosis and reproductive performance in Norwegian dairy cows. *J Dairy Sci* 2001; 84: 1390–6.

Ginther OJ, Nuti L, Wentworth BC, Tyler WJ. Progesterone concentration in milk and blood during pregnancy in cows. *Proc Soc Exp Biol* 1974; 146: 354–7.

Goff JP. Managing the transition cow- consideration for optimising energy balance and immune function. *Cattle Pract* 2003; 11(2): 51–63.

Gruenberg W. Hyperphosphatemia. In: MSD veterinary manual. Kenilworth: Merck Sharp and Dohme, 2019: 1 str. <https://www.msdbvetmanual.com/metabolic-disorders/disorders-of-phosphorus-metabolism/hyperphosphatemia> (3. jun 2019)

Grummer RR, Carroll DJ. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle. *J Anim Sci* 1991; 69: 3838–52.

Grummer RR, Mashek DG, Hayirli A. Dry matter intake and energy balance in the transition period. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2004; 20: 447–70.

Hafez ESE. Reproduction in farm animals. 6th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993: 321–2.

Hawkins DE, Niswender KD, Oss GM, et al. An increase in serum lipids increases luteal lipid content and alters the disappearance rate of progesterone in cows. *J Anim Sci* 1995; 73: 541–5.

Heckman GS, Katz LS, Foote RH, Oltenacu EAB, Scott NR, Marshall RA. Estrous cycle patterns in cattle monitored by electrical resistance and milk progesterone. *J Dairy Sci* 1979; 62: 64–8.

Heravi Moussavi AR, Gilbert RO, Overton TR, Bauman DE, Butler WR. Effects of feeding fish meal and n-3 fatty acids on milk yield and metabolic responses in early lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2007; 90: 136–44.

Herdt TH. Ruminant adaptation to negative energy balance: influences on the etiology of ketosis and fatty liver. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2000; 16: 215–30.

Hinckley T, Clark RM, Bushmich SL, Milvae RA. Long chain polyunsaturated fatty acids and bovine luteal cell function. *Biol Reprod* 1996; 55: 445–9.

<http://www.kamarinc.com/> (30. okt 2018)

[https://sl.wikipedia.org/wiki/Linolenska\\_kislina](https://sl.wikipedia.org/wiki/Linolenska_kislina) (31. okt 2018)

[https://sl.wikipedia.org/wiki/Linolna\\_kislina](https://sl.wikipedia.org/wiki/Linolna_kislina) (31. okt 2018)

<https://www.draminski.com/agri/estrous-detectors/draminski-estrous-detector-for-cows-and-mares/> (30. okt 2018)

- Imakawa K, Day ML, Zalesky DD, Clutter A, Kittok RJ, Kinder JE. Effects of  $17\beta$  estradiol diets varying in energy on secretion of luteinizing hormone in beef heifers. *J Anim Sci* 1987; 64: 805–15.
- Jazbec I. Klinično laboratorijska diagnostika. Ljubljana: Veterinarska fakulteta, 1990a, 137–40.
- Jazbec I. Klinično laboratorijska diagnostika. Ljubljana: Veterinarska fakulteta, 1990b, 157.
- Jazbec I. Klinično laboratorijska diagnostika. Ljubljana: Veterinarska fakulteta, 1990c, 161.
- Jazbec I. Klinično laboratorijska diagnostika. Ljubljana: Veterinarska fakulteta, 1990d, 141–4.
- Jerred M, Carroll DJ, Combs DK, Gnummer RR. Effects of fat supplementation and immature alfalfa to concentrate ratios on nutrient utilization and lactation. *J Dairy Sci* 1990; 73: 2842–54.
- Ježek J, Cincović MR, Nemec M, et al. Beta-hydroxybutyrate in milk as screening test for subclinical ketosis in dairy cows. *Pol J Vet Sci* 2017; 20(3): 507–12.
- Johansson B, Persson Waller K, Jensen SK, Lindqvist H, Nadeau E. Status of vitamins E and A and beta-carotene and health in organic dairy cows fed a diet without synthetic vitamins. *J Dairy Sci* 2014; 97: 1682–92.
- Juchem SO, Santos JEP, Cerri RLA, et al. Effect of calcium salts of fish and palm oils on lactational performance of Holstein cows. *Anim Feed Sci Tech* 2008; 140: 18–38.
- Kraft W, Dürr UM: Klinische labordiagnostik in der Tiermedizin 5. Aufl. Schattauer: Stuttgart, 1999.
- Lacetera N, Scalia D, Bernabucci U, Ronchi B, Pirazzi D, Nardone A. Lymphocyte functions in overconditioned cows around parturition. *J Dairy Sci* 2005; 88: 2010–16.
- Larsen LN, Høvik K, Bremer J, Holm KH, Myhren F, Børretzen B. Heneicosapentaenoate (21:5n-3): its incorporation into lipids and its effects on arachidonic acid and eicosanoid synthesis. *Lipids* 1997; 32: 707–14.
- LeBlanc S. Health in the transition period and reproductive performance. *Adv Dairy Technol* 2010; 22: 97–110.

Levine L, Worth N. Eicosapentaenoic acid: its effects on arachidonic acid metabolism by cells in culture. *J Allergy Clin Immunol* 1984; 74: 430–6.

Lock AL, Harvatine KJ, Drackley JK, Bauman DE. Concepts in fat and fatty acid digestion in ruminants. In: Intermountain Nutrition Conference: proceedings. Salt Lake City, 2006: 85–100.

Lucy MC, De la Sota RL, Staples CR, Thatcher WW. Ovarian follicular populations in lactating dairy cows treated with recombinant bovine somatotropin (sometribove) or saline and fed diets differing in fat content and energy. *J Dairy Sci* 1993; 76: 1014–27.

Lucy MC, Gross TS, Thatcher WW. Effect of intravenous infusion of a soybean oil emulsion on plasma concentration of 15-keto-13, 14-dihydroprostaglandin F2 alfa and ovarian function in cycling Holstein heifers. In: Livestock reproduction in Latin America: proceedings. Vienna: International Atomic Energy Agency, 1990; 119–32.

Lucy MC, Staples CR, Michel FM, Thatcher WW. Effect of feeding calcium soaps to early post-partum dairy cows on plasma prostaglandin F2, luteinizing hormone, and follicular growth. *J Dairy Sci* 1991; 74: 483–9.

Mackey DR, Sreenan JM, Roche JF, Diskin MG. The effect of acute nutritional restriction on incidence of anovulation and periovulatory estradiol and gonadotropin concentrations in beef heifers. *Biol Reprod* 1999; 61: 1601–7.

Markusfeld O, Gallon N, Ezra E. Body condition score, health, yield and fertility in dairy cows. *Vet Rec* 1997; 141: 67–72.

Markusfeld O. Relationship between overfeeding, metritis and ketosis in high yielding dairy cows. *Vet Rec* 1985; 116: 489–91.

Mattos R, Staples CR, Thatcher WW. Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants. *Rev Reprod* 2000; 5: 38–45.

Mattos R, Staples CR, Williams J, Amorocho A, McGuire MA, Thatcher WW. Uterine, ovarian, and production responses of lactating dairy cows to increasing dietary concentrations of menhaden fish meal. *J Dairy Sci* 2002; 85: 755–64.

Miyamoto A, Shirasuna K. Luteolysis in the cow: a novel concept of vasoactive molecules. *Anim Reprod* 2009; 6(1): 47–59.

Mrkun J. Uporaba ultrazvoka v reprodukciji govedi: seminar št 4. Ljubljana: Veterinarska fakulteta, 2007.

Mrkun J. funkcionalna anatomija spolnih organov in osnovna fiziologija spolnega ciklusa pri kravah. Ljubljana: Veterinarska fakulteta, 2012.

Murphy M, Uden P, Pahnquist DL, Wiktorsson H. Rumen and total diet digestibilities in lactating cows fed diets containing full-fat rapeseed. *J Dairy Sci* 1987; 70: 1572–82.

Nebel RL. On-farm milk progesterone tests. *J Dairy Sci* 1988; 71(6): 1682–90.

O'Connor ML. Milk progesterone analysis for determining reproductive status. University Park: College of Agricultural Sciences, Department of Dairy and Animal Science, 2016: 1–6.  
<http://www.dairyweb.ca/Resources/USWebDocs/MilkProgest.pdf> (30. okt. 2018)

Oldick BS, Staples CR, Thatcher WW, Gyawu P. Abomasal infusion of glucose and fat – effects on digestion, production, and ovarian and uterine functions of cows. *J Dairy Sci* 1997; 80: 1315–28.

Orešnik A, Kermauner A. Osnove prehrane: učbenik. Slovenj Gradec: Kmetijska založba, 2009a: 24–8.

Orešnik A, Kermauner A. Osnove prehrane: učbenik. Slovenj Gradec: Kmetijska založba, 2009b: 80.

Palmer LS, Cunningham WS, Eckles CH. Normal variations in the inorganic phosphorus of the blood of dairy cattle. *J Dairy Sci* 1930; 13(3), 174–95.

Petit HV, Germiquet C, Lebel D. Effect of feeding whole, unprocessed sunflower seeds and flaxseed on milk production, milk composition, and prostaglandin secretion in dairy cows. *J Dairy Sci* 2004; 87: 3889–98.

Pipan V. Pomen aktivnega spremljanja reprodukcijskih parametrov. Ljubljana: Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, 1991. Magistrsko delo.

Podpečan O. Proučevanje in primerjava poporodnega obdobja pri prvesnicah in kravah v tretji laktaciji. Ljubljana: Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, 2005. Magistrsko delo.

Randel RD. Nutrition and post-partum rebreeding in cattle. *J Anim Sci* 1990; 68: 853–62.

Roche JR, Berry DP. Periparturient climatic, animal, and management factors influencing the incidence of milk fever in grazing systems. *J Dairy Sci* 2006; 89: 2775–83.

Roche JR, Friggins NC, Kay JK, Fisher MW, Stafford KJ, Berry DP. Invited review: body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. *J Dairy Sci* 2009; 92: 5769–801.

Schauff DJ, Clark JH. Effects of feeding diets containing calcium salts of long-chain fatty acids to lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 1992; 75: 2990–3002.

Schingoethe DJ, Casper DP. Total lactational response to added fat during early lactation. *J Dairy Sci* 1991; 74: 2617–22.

Schneider BH, Sklan D, Chalupa W, Kronfeld DS. Feeding calcium salts of fatty acids to lactating cows. *J Dairy Sci* 1988; 71: 2143–50.

Senger PL. Pathways of pregnancy and parturition. 2nd rev. ed. Pullman WA: Current Conceptions, 2005a: 165–81.

Senger PL. Pathways of pregnancy and parturition. 2nd rev. ed. Pullman WA: Current Conceptions, 2005b: 189–204.

Senger PL. Pathways of pregnancy and parturition. 2nd rev. ed. Pullman WA: Current Conceptions, 2005c: 327–35.

Sessler AM, Ntambi JM. Polyunsaturated fatty acid regulation of gene expression. *J Nutr* 1998; 128: 923–6.

Sklan D, Kaim M, Moallem U, Folman Y. Effect of dietary calcium soaps on milk yield, body weight, reproductive hormones, and fertility in first parity and older cows. *J Dairy Sci* 1994; 77: 1652–60.

- Sogn JH, Curry TE, Brannstrom M, et al. Inhibition of follicle-stimulating hormone-induced ovulation by indomethacin in the perfused rat ovary, *Biol Reprod* 1987; 36: 536–42.
- Staples CR, Burke JM, Thatcher WW. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. *J Dairy Sci* 1998; 81: 856–71.
- Sterk AR. Ruminal fatty acid metabolism: altering rumen biohydrogenation to improve milk fatty acid profile od dairy cows. Wageningen: Wageningen University, 2011. Doctoral thesis.
- Stöber M. Krankheiten des Sinnesorgane. In: Driksen G, Gründer HD, Stöber M. eds. Innere Medizin und Chirurgie des Rindes. 5. Aufl. Parey: Stuttgart, 2006: 1171–209.
- Stojević Z, Piršljin J, Milinković-Tur S, Zdelar-Tuk, Beer Ljubić B. Activities of AST, ALT and GGT in clinically healthy dairy cows during lactation and in the dry period. *Vet Arh* 2005; 75(1): 67–73.
- Sumner JM, McNamara JP. Expression of lipolytic genes in the adipose tissue of pregnant and lactating Holstein dairy cattle. *J Dairy Sci* 2007; 90: 5237–46.
- Subtle NF. Mineral nutrition of livestock. 4th ed, Wallingford: CAB International, 2010a, 105.
- Subtle NF. Mineral nutrition of livestock. 4th ed, Wallingford: CAB International, 2010b, 145–6.
- Subtle NF. Mineral nutrition of livestock. 4th ed, Wallingford: CAB International, 2010c, 176–7.
- Šlamberger Kranjc V. Biotehnološke metode in reprodukcija domaćih živali. Fram: Modra ptica, 2014: 31–7.
- Talavera F, Park CS, Williams GL. Relationships among dietary lipid intake, serum cholesterol and ovarian function in Holstein heifers. *J Anim Sci* 1985; 60: 1045-51.
- Thatcher WW, Bilby TR, Staples CR, Maclarens LD, Santos JE. Effects of polyunsaturated fatty acids on reproductive processes in dairy cattle. In: Proceedings of the 19th Annual Southwest Nutrition and Management Conference. Tuscon, 2004: 1–28 str.  
<https://www.semanticscholar.org/search?q=Effects%20of%20Polyunsaturated%20Fatty%20Acids%20on%20reproductive%20processes%20in%20dairy%20cattle>

cids%20on%20Reproductive%20Processes%20in%20Dairy%20Cattle&sort=relevance (23.  
okt 2018)

Thatcher WW, Binelli M, Burke JM, Staples CR, Ambrose JD, Coelho S. Antiluteolytic signals between conceptus and endometrium. *Theriogenology* 1997; 47: 131–40.

Tomašković A, Makek Z, Dobranić T, Samardžija M. Raspolođivanje krava i junica. Zagreb:  
Veterinarski fakultet, 2007a: 113-21.

Tomašković A, Makek Z, Dobranić T, Samardžija M. Raspolođivanje krava i junica. Zagreb:  
Veterinarski fakultet, 2007b: 126–7.

Trujillo EP, Broughton KS. Ingestion of n-3 polyunsaturated fatty acids and ovulation in rats. *J Reprod Infertil* 1995; 105: 197–203.

van Knegsel ATM, van den Brand H, Dijkstra J, et al. Effect of glucogenic vs. lipogenic diets on energy balance, blood metabolites, and reproduction in primiparous and multiparous dairy cows in early lactation. *J Dairy Sci* 2007; 90: 3397–409.

Vercouteren MM. Factors associated with early cyclicity in postpartum dairy cows. *J Dairy Sci* 2015; 98(1): 229-39.

Whitaker DA. Use and interpretation of metabolic profiles. In: Andrews HA, ed. *The health of dairy cattle*. Oxford: Blackwell, 2000: 89-107.

Williams GL. Modulation of luteal activity in postpartum bed cows through changes in dietary lipid. *J Anim Sci* 1989; 67: 785–93.

Yudkin S. Estimation of vitamin A and carotene in human blood. *Biochem J* 1941; 35: 551–6.

Zachut M, Arieli A, Lehrer H, Livshitz L, Yakoby S, Moallem U. Effects of increased supplementation of omega-3 fatty acids to transition dairy cows on performance and fatty acid profile in plasma, adipose tissue, and milk fat. *J Dairy Sci* 2010; 93: 5877–89.

Žgajnar J. Prehrana in krmljenje goved. Ljubljana: Kmečki Glas, 1990: 209–10.

Žust J, Pestevšek U, Vengušt A, Jakovac Strajn B. Patologija prehrane goved, malih prežvekovalcev, prašičev in perutnine: izbrana poglavja iz higiene in patologije prehrane živali. Ljubljana: Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, 2009: 263–6.