

Metaboličke promjene i iskorištavanje metabolita u proizvodnji mlijeka kod krava u toplinskom stresu

Branislava Belić¹, Marko R. Cincović^{1}, Anka Popović-Vranješ²,
Radovan Pejanović³, Milan Krajinović²*

¹Departman za veterinarsku medicinu, ²Departman za stočarstvo,
³Departman za ekonomiku poljoprivrede i sociologiju sela,
Poljoprivredni fakultet, Trg D. Obradovića 8, Novi Sad, Vojvodina, Srbija

Prispjelo - Received: 06.07.2011.
Prihvaćeno - Accepted : 18.11.2011.

Sažetak

Toplinski stres je veliki ekonomski problem u mliječnom govedarstvu, jer dovodi do smanjene proizvodnje i kvalitete mlijeka. Smanjena proizvodnja i kvaliteta mlijeka nastaje kao posljedica smanjenog unosa hrane i promjena u postapsorpcijskom metabolizmu hranjivih tvari. Cilj ovog rada bio je utvrditi postapsorpcijsku upotrebu glukoze, neesterificiranih masnih kiselina (NEFA), beta hidroksibutirata (BHB) i uree u procesu proizvodnje mlijeka, određivanjem postprandijalne koncentracije metabolita i stupnja ekstrakcije metabolita u mliječnoj žlijezdi. Glukoza se povećano koristi u energetske svrhe u organizmu tijekom djelovanja toplinskog stresa, pa manja količina glukoze dolazi do mliječne žlijezde. Zbog toga opada koncentracija laktoze u mlijeku. Mliječna žlijezda se adaptira na smanjen dotok glukoze i povećano koristi NEFA i BHB za svoje potrebe, što negativno utječe na mliječnu mast i proteine. Urea koja je u povećanoj koncentraciji tijekom toplinskog stresa lako prolazi kroz mliječnu žlijezdu i pokazuje negativan utjecaj na proteine mlijeka. Sve navedeno smanjuje količinu proizvedenog mlijeka. Smanjen dotok glukoze u mliječnu žlijezdu, povećano iskorištavanje NEFA i BHB za proizvodnju mlijeka i povišena koncentracija uree tijekom toplinskog stresa direktno utječu na proizvodnju i kvalitetu mlijeka.

Ključne riječi: mliječne krave, toplinski stres, proizvodnja mlijeka, metabolizam

Uvod

Toplinski stres je veliki zdravstveni i ekonomski problem, koji se događa kao posljedica globalnog zagrijavanja. U našoj geografskoj regiji ljetni mjeseci predstavljaju razdoblje u kojem postoje uvjeti za nastanak toplinskog stresa, jer je indeks temperature i vlažnosti preko 72. Tijekom ljetnog toplinskog stresa na razini cijele farme značajno opada proizvodnja mlijeka, postotak mliječne masti, proteina i bezmasne suhe tvari u mlijeku (Cincović i Belić, 2009), što je uz pad reproduktivne sposobnosti (Cincović i sur., 2010a) jedan od najvećih ekonomskih problema.

Postoje brojni uzroci kojima se tumači opadanje proizvodnje i kvalitete mlijeka tijekom djelovanja to-

plinskog stresa. Jedan od najčešćih i osnovnih jeste smanjeni unos hrane u vrelim danima (Albright and Alliston, 1972; Collier i sur., 1982; NRC, 1989). Istraživanja su pokazala da krave u drugoj i posljednjoj trećini laktacije značajno smanjuju mliječnost tijekom toplinskog stresa, jer u tom razdoblju proizvodnja mlijeka najviše ovisi o unosu hrane (Spiers i sur., 2004). Probava daje organizmu krava veliki prinos toplinske energije, pa smanjen unos hrane može biti refleksan odgovor u cilju zaštite homeostaze.

Novija istraživanja pokazuju da se proizvodnja mlijeka i njegova kvaliteta mijenjaju samo ako je unos hrane smanjen za trećinu (Rhoads i sur., 2009), a da pravi uzrok smanjene proizvodnje mlijeka leži u metaboličkim promjenama nastalim u postapsorpcijskom razdoblju. Tijekom negativne energetske bilan-

ce u razdoblju nakon teljenja kod krava dolazi do pada koncentracije glukoze i porasta koncentracije neesterificiranih masnih kiselina (NEFA) (Cincović i sur., 2011a). U ovakvim fiziološkim okolnostima NEFA se koristi za energetske potrebe organizma, dok se glukoza štedi kako bi se koristila u proizvodnji mlijeka. Ušteda glukoze značajan je fiziološki postupak u održavanju mliječnosti (Grummer and Carrol, 1991). U toplinskom stresu negativna energetska bilanca podrazumijeva sniženu koncentraciju glukoze, ali i sniženu koncentraciju NEFA (Wheelock i sur., 2010; Cincović i sur., 2010b). Razgradnja glukoze u energetske potrebe daje manju energiju nego razgradnja masti, što umanjuje toplinsko opterećenje organizma. Pretpostavka je da tijekom toplinskog stresa krave glukoza više koriste u energetske svrhe, a manje za proizvodnju mlijeka, dok se masti značajnije iskorištavaju za proizvodnju mlijeka.

Zbog katabolizma proteina i viška amonijaka iz buraga u jetri krava povećano se stvara urea tijekom djelovanja toplinskog stresa (Ronchi i sur., 1999; Cincović i sur., 2010b). Urea se lako filtrira kroz stanične membrane i ima brojne utjecaje na proizvodnju mlijeka. Pretpostavka je da povišena koncentracija uree i njen prolazak kroz mliječnu žlijezdu ima negativan utjecaj na proizvodnju i karakteristike mlijeka u toplinskom stresu krava.

Cilj ovog rada je da se ispituju pretpostavke u vezi upotrebe i utjecaja metabolita u procesu proizvodnje mlijeka tijekom djelovanja toplinskog stresa na organizam mliječnih krava.

Materijal i metode

Eksperimentalne životinje: U ogled je ušlo 12 multiparih krava holštajn-frizijske pasmine (2. i 3. paritet). Krave su bile u sredini laktacije. Uzgajane su u stajskom, slobodnom sustavu s dubokom steljom. Vodu su konzumirale *ad libidum*, dok je hrana davana u dva obroka (07 h i 19 h). Sastav obroka (kompletni obrok, TMR) je bio sljedeći: silaža kukuruza (~33% suhe tvari) (oko 25 kg), silaža lucerne (oko 6 kg) i koncentrat (~16% suhe tvari) (oko 7 kg).

Toplinski stres: Uvjeti za postojanje toplinskog stresa utvrđivani su mjerenjem temperaturno-humidnog indeksa (THI) putem sljedeće formule (McDowell et al, 1979): $sTHI = 0.8 \times sAT + [sRH \times (sAT - 14.4)] + 46.4$, gdje je sTHI - srednja vrijednost

THI, sAT srednja vrijednost ambijentalne temperature u °C, a RH srednja vrijednost vlažnosti zraka u apsolutnim brojevima. Toplinski stres je postojao kada je vrijednost THI bila preko 72 u razdoblju između dva obroka. Podaci o temperaturi i vlažnosti zraka dobiveni su iz regionalne meteorološke stanice, koja je bila u blizini farme.

Fizički odgovor na toplinski stres: Kravama je u trenutku uzimanja krvi/mlijeka mjerena rektalna temperatura i frekvencija disanja, kako bi se potvrdila osjetljivost krava na toplinski stres. Konzumiranje hrane mjereno je tako da je izmjeren ostatak hrane nakon završenog obroka i podijeljen s brojem krava.

Analiza mlijeka: Uzimani su pojedinačni uzorci mlijeka nakon večernje mužnje i tom prilikom je određivana količina mlijeka (L) i kvaliteta mlijeka (% mliječne masti, proteina i laktoze). Korišten je aparat Milcoscan (Foss, Denmark). Izračunat je i koeficijent korelacije između količine i parametara kvalitete mlijeka u toplinskom stresu.

Analiza metabolita u krvi: U cilju ispitivanja postprandijalne koncentracije metabolita (glukoze, NEFA, beta hidroksibutirata - BHB i uree) uzorkovanje krvi iz vene jugularis vršeno je jedan sat prije obroka, i potom 1, 2, 4 i 8 sati nakon obroka. U 8. satu nakon obroka krv je uzimana i iz mamarne vene, kako bi se utvrdio stupanj ekstrakcije metabolita kroz mliječnu žlijezdu. Biokemijski parametri ispitani su klasičnim biokemijskim metodama upotrebom standardnih kitova (Pointe science USA i Randox UK) i na biokemijskom aparatu Rayto RT-1904C. Linearni trend postprandijalnog kretanja metabolita utvrđen je kako bi se vidjela brzina njihovog iskorištavanja u organizmu (B).

Posebno je ispitan stupanj iskorištavanja (postotak ekstrakcije) metabolita u mliječnoj žlijezdi. Postotak ekstrakcije (EX) metabolita kroz mliječnu žlijezdu bio je utvrđen kao odnos razlike vrijednosti koncentracije metabolita dobivene iz jugularne vene u osmom satu nakon uzimanja obroka (VJ) i vrijednosti metabolita u mamarnoj veni u istom trenutku (VM) i koncentracije metabolita u jugularnoj veni: $EX = (VJ - VM) / VJ \times 100\%$.

Plan eksperimenta i statistička analiza: Kontrolno razdoblje u eksperimentu bilo je termoneutralno razdoblje (svibanj), dok je eksperimentalno razdoblje bilo razdoblje djelovanja toplinskog stresa (sr-

panj i kolovoz). Tijekom svibnja kod svih 12 krava vršeno je mjerenje rektalne temperature, respiracije, potrošnje hrane, kao i uzorkovanje krvi i mlijeka u istom danu. Ovakve analize su kod 6 krava ponovljene u srpnju i kod 6 u kolovozu. Dobiveni podaci predstavljeni su kao prosječne vrijednosti \pm standardna devijacija. Statistički značajna razlika između parametara (rektalna temperatura, respiracija, konzumacija hrane, količina mlijeka, % mliječne masti, % laktoze, % proteina, koncentracija ispitivanih metabolita 8. sata nakon obroka, stupanj ekstrakcije metabolita kroz vime, postprandijalni trend koncentracije metabolita) u termoneutralnom i stresnom razdoblju dobivena je određivanjem značajnosti razlike srednje vrijednosti putem t-testa.

Na kraju je ispitivanjem značajnosti koeficijenta korelacije ispitana veza između količine/kvalitete proizvedenog mlijeka i: a) postprandijalnog trenda koncentracije metabolita, b) stupanj ekstrakcije metabolita kroz mliječnu žlijezdu i c) interakcija postprandijalnog trenda koncentracije metabolita i stupnja ekstrakcije kroz mliječnu žlijezdu. Statistička signifikantnost postojala je ako je rizik u odlučivanju bio manji od 5 odnosno 1 %. Korišten je statistički paket Statistica 5 (Stat.Soft.Inc.).

Rezultati i rasprava

Prosječna vrijednost THI (>72) u danima kada je vršena opservacija životinja ukazuje na izloženost toplinskom stresu, osim u mjesecu svibnju koji je

uzet kao kontrolno termoneutralno razdoblje (grafikon 1). Krave izložene toplinskom stresu u ovom ogledu pokazale su tipične aklimatizacijske procese na visoku temperaturu koji se ogledaju u povišenoj rektalnoj temperaturi, ubrzanoj respiraciji i smanjenom unosu hrane (tablica 1). Ovakav nalaz kod krava opterećenih toplinskim stresom slaže se s prethodno dobivenim rezultatima (Belić i sur., 2010; Cincović i sur., 2011b). Korelacija između rektalne temperature/razine respiracije i proizvodnje mlijeka u toplinskom stresu je negativna i signifikantna (Cincović i sur., 2011c;). Porast razine respiracije posebno je važan parametar koji ukazuje na opterećenost krava toplinskim stresom, jer se glavno odavanje topline iz organizma krava vrši preko respiratornih organa (Cincović, 2010).

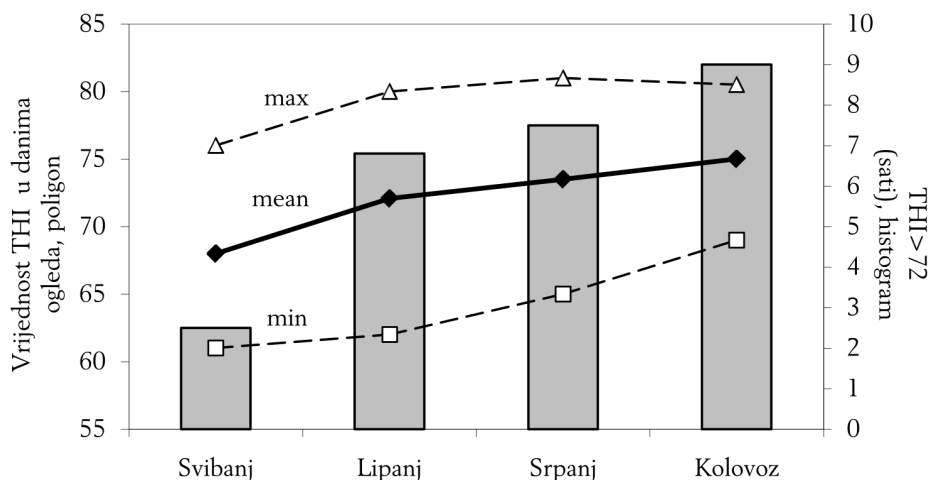
Tijekom toplinskog stresa značajno opada količina proizvedenog mlijeka, a postoje i promjene u kvaliteti mlijeka (tablica 2). Toplinski stres dovodi do značajnog pada količine proizvedenog mlijeka (L), postotka proteina, masti i laktoze u mlijeku. Ovakvi rezultati se slažu sa prethodno dobivenim rezultatima (Cincović i Belić, 2009; Cincović i sur., 2010d). Postoji značajna negativna korelacija između vrijednosti THI i proizvodnje mlijeka (Bohmanova i sur., 2007, Gantner i sur., 2011). Uzroci smanjene proizvodnje i kvalitete mlijeka tijekom toplinskog stresa su: umanjena probavljivost i preživljavanje hrane, smanjena produkcija slobodnih masnih kiselina u buragu i smanjenje protoka krvi i sekretorne sposobnosti vimena (Kadzere i sur., 2002). Vjerojatno je da

Tablica 1. Utjecaj toplinskog stresa na fizičku adaptaciju krava

	Termoneutralno razdoblje	Toplinski stres	P<
Rektalna temperatura, °C	38,81 \pm 0,51	39,27 \pm 0,39	<0,05
Respiracija, min	48,32 \pm 9,53	71,25 \pm 15,12	<0,01
Konzumacija hrane, kg	36,95	31,52 \pm 1,56	<0,01

Tablica 2. Utjecaj toplinskog stresa na proizvodnju i kvalitetu mlijeka

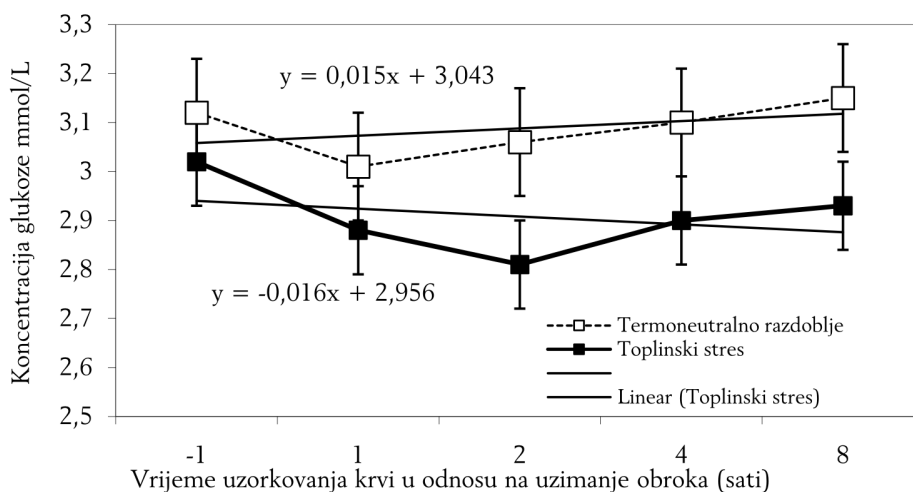
	Termoneutralno razdoblje	Toplinski stres	P<
Količina mlijeka, L	25,87 \pm 2,83	22,71 \pm 2,34	<0,05
Mliječna mast, %	3,79 \pm 0,23	3,61 \pm 0,2	NS
Proteini mlijeka, %	3,21 \pm 0,041	2,93 \pm 0,053	<0,01
Laktoza, %	4,92 \pm 0,21	4,69 \pm 0,17	<0,01



Grafikon 1. Kretanje temperaturno-humidnog indeksa (THI) u oglednom razdoblju

Tablica 3. Međusobna veza parametara mlijeka u toplinskom stresu

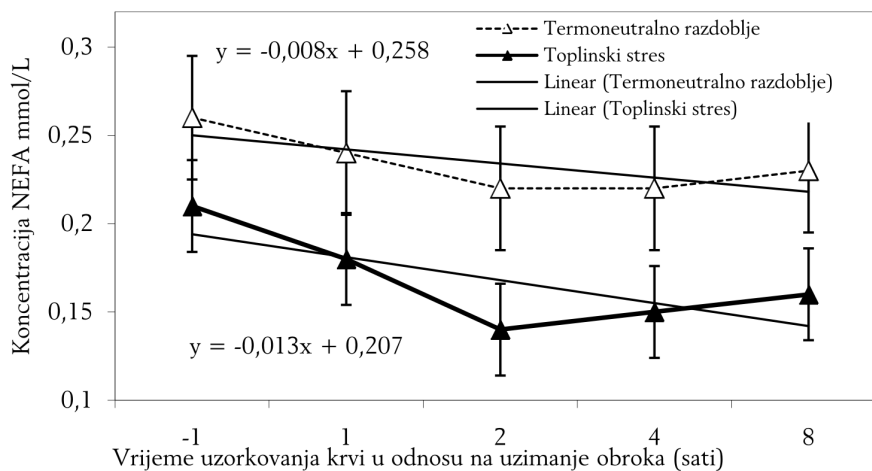
	Količina mlijeka L	Mliječna mast, %	Proteini mlijeka, %	Laktoza %
Količina mlijeka, L	1	0,64 (0,05)	0,62 (0,05)	0,87 (0,01)
Mliječna mast, %		1	0,52 (0,05)	0,78 (0,01)
Proteini mlijeka, %			1	0,69 (0,05)
Laktoza, %				1



Grafikon 2. Utjecaj toplinskog stresa na postprandijalnu koncentraciju glukoze (mmol/L)

spomenuti mehanizmi imaju aditivan učinak na proizvodnju mlijeka tijekom toplinskog stresa, jer postoji signifikantna veza između svih parametara mlijeka, bez obzira na njihov izvor, prekursore i mehanizme kojim se stvaraju u mlijeku (tablica 3).

Utjecaj glukoze na proizvodnju i kvalitetu mlijeka u toplinskom stresu - Koncentracija glukoze kod krava u toplinskom stresu je značajno niža u odnosu na krave u termoneutralnom razdoblju, što se može vidjeti na grafikonu 2. Ovakav nalaz se slaže s nala-



Grafikon 3. Utjecaj toplinskog stresa na postprandijalnu koncentraciju neesterificiranih masnih kiselina (NEFA) (mmol/L)

zom većine autora koji su utvrdili da koncentracija glukoze opada tijekom djelovanja toplinskog stresa (Ronchi i sur., 1999; Rhoads i sur., 2010; Wheelock i sur., 2010; Cincović i sur., 2010d). Trend postprandijalne glikemije je pozitivan u termoneutralnom razdoblju i negativan tijekom izlaganja u toplinskom stresu. Rezultati kretanja postprandijalne glikemije u termoneutralnom razdoblju slažu se s rezultatima prethodnih istraživanja (Wylie i sur., 2008; Ametaj i sur., 2009), dok je negativan trend postojao u toplinskom stresu.

Negativan trend glikemije u postprandijalnom razdoblju govori o značajnom porastu iskorištavanja glukoze za energetske potrebe u organizmu. Ovakav nalaz može se objasniti povećanom osjetljivošću na inzulin tijekom toplinskog stresa (Itoh i sur., 1998). Glukoza je bolji izvor energije u toplinskom stresu, jer sagorijevanje glukoze daje manju toplinsku energiju u odnosu na sagorijevanje iste količine masti (Popović, 2008), čime se smanjuje toplinsko opterećenje organizma. Glukoza iz krvi je prekursor laktoze u mlijeku (Baird i sur., 1979). Ekskrecija glukoze kroz mamarnu žlijezdu ne razlikuje se značajno tijekom termoneutralnog razdoblja i toplinskog stresa (tablica 4), pa se sniženi postotak laktoze može objasniti smanjenim dotokom glukoze do mliječne žlijezde u toplinskom stresu. Smanjen dotok glukoze u mliječnu žlijezdu nastaje kao posljedica potrošnje glukoze u energetske svrhe u drugim tkivima, čime se može objasniti negativni trend postprandijalne glikemije kod krava u toplinskom stresu (tablica 4). Ti-

jekom toplinskog stresa opada koncentracija NEFA i BHB, što dodatno objašnjava povećano iskorištavanje glukoze u energetske svrhe u mišićima i drugim tkivima. Dijametralno suprotan proces odvija se na samom početku laktacije, kada se masne kiseline iz depoa povećano mobiliziraju i kako bi se koristile u energetske svrhe, a glukoza čuvala za proizvodnju mlijeka, koja se postupno povećava (Đoković, 2010). Udio glukoze u proizvodnji mlijeka opada tijekom djelovanja toplinskog stresa, pa opada i postotak laktoze u mlijeku, kao i volumen proizvedenog mlijeka. Laktoza pozitivno utječe na volumen proizvedenog mlijeka zbog izražene hidrofилности (Rook, 1979). Trend postprandijalne glikemije i interakcija postprandijalna glikemija \times ekskrecija glukoze kroz mliječnu žlijezdu značajno koreliraju sa postotkom laktoze i količinom proizvedenog mlijeka (tablica 5).

Utjecaj neesterificiranih masnih kiselina i ketona na proizvodnju i kvalitetu mlijeka u toplinskom stresu - Koncentracija NEFA je niža kod krava u toplinskom stresu, a postprandijalna koncentracija najprije opada da bi se tijekom vremena vratila na razinu koja je približna ali uvijek niža od početne razine prije uzimanja obroka (grafikon 3). Ovakav nalaz slaže se s nalazima drugih istraživača, koji su utvrdili da koncentracija NEFA nakon obroka opada zbog veće dostupnosti energije organizmu krava i/ili prerade ovih masnih kiselina u BHB kroz seriju metaboličkih procesa koji se odvijaju u jetri (Sutton i sur., 1988; Guo i sur., 2007). Koncentracije ketona BHB-a niža je kod krava u toplinskom stresu, ali s pozitivnim

Tablica 4. Postprandijalni trend kretanja metabolita, koncentracija metabolita u jugularnoj i mamarnoj veni 8. sata nakon uzimanja obroka i stupanj ekskrecije metabolita kroz vime krava u termoneutralnom razdoblju i toplinskom stresu

		Termoneutralno razdoblje	Toplinski stres	P<
Glukoza (mmol/L)	B ^a	0,015±0,003	-0,016±0,006	0,001
	VJ ^b	3,15±0,11	2,93±0,09	0,01
	VM ^c	2,27±0,14	2,14±0,11	0,05
	EX ^d	28±3,5	27±4	NS
NEFA (mmol/L)	B	-0,008±0,002	-0,013±0,004	0,05
	VJ	0,26±0,035	0,16±0,025	0,01
	VM	0,16±0,05	0,04±0,03	0,01
	EX	39±7	25±6	0,01
BHB (mmol/L)	B	0,038±0,002	0,007±0,002	0,05
	VJ	0,56±0,08	0,35±0,09	0,01
	VM	0,33±0,11	0,24±0,09	0,05
	EX	40±11	31±9	0,05
Urea (mmol/L)	B	0,134±0,071	0,21±0,062	NS
	VJ	4,57±0,35	5,7±0,23	0,01
	VM	4,02±0,47	4,16±0,51	0,05
	EX	88±11	73±15	0,05

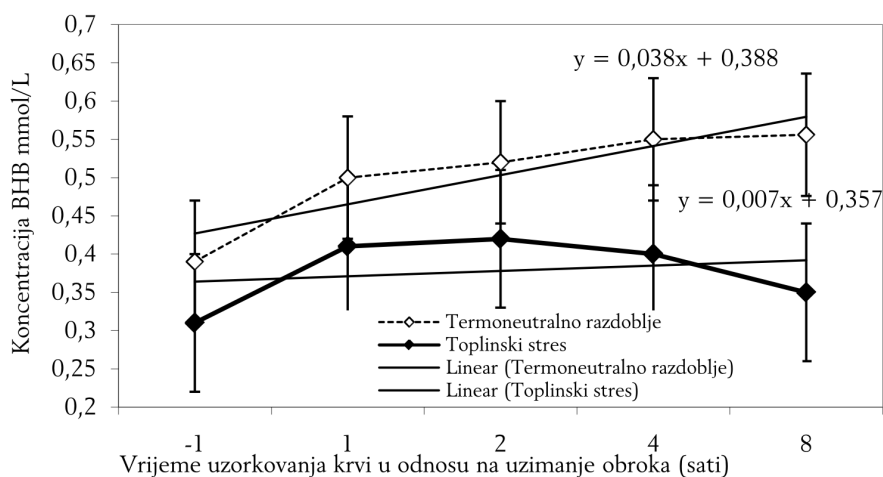
^aB - parametar b linearne jednadžbe, trend promjene koncentracije metabolita u postprandijalnom razdoblju

^bVJ - vrijednost koncentracije metabolita dobivene iz vene jugularis, osmog sata nakon uzimanja hrane

^cVM - vrijednost koncentracije metabolita u mamarnoj veni dobivenih osmog sata nakon uzimanja hrane

^dEX - ekstrakcija metabolita kroz mamarnu žlijezdu (VJ-VM)/VJ×100 %

NS - statistički nesigifikantno



Grafikon 4. Utjecaj toplinskog stresa na postprandijalnu koncentraciju beta hidroksibutirata (BHB) (mmol/L)

Tablica 5. Korelacija između trenda vrijednosti metabolita u postprandijalnom razdoblju s količinom i kvalitetom proizvedenog mlijeka

		Količina mlijeka L	Mliječna mast %	Proteini mlijeka %	Laktoza %
Glukoza (mmol/L)	B ^a	0,82 (0,01)	NS	NS	0,9 (0,01)
	EX ^b	NS	NS	NS	NS
	B×EX ^c	0,61 (0,05)	NS	NS	0,7 (0,01)
NEFA (mmol/L)	B	NS	0,77 (0,01)	0,59 (0,05)	NS
	EX	NS	0,81 (0,01)	0,54 (0,05)	0,52 (0,05)
	B×EX	0,55 (0,05)	0,89 (0,01)	NS	NS
BHB (mmol/L)	B	NS	0,61 (0,05)	0,58 (0,05)	NS
	EX	NS	0,51 (0,05)	NS	NS
	B×EX	0,69 (0,05)	NS	NS	NS
Urea (mmol/L)	B	-0,74 (0,01)	NS	-0,83 (0,01)	NS
	EX	NS	NS	0,66 (0,05)	-0,62 (0,05)
	B×EX	0,62 (0,5)	NS	0,77 (0,01)	NS

^aB - parametar b linearne jednadžbe, trend promjene koncentracije metabolita u postprandijalnom razdoblju

^bEX - ekstrakcija metabolita kroz mamarnu žlijezdu $(VJ-VM)/VJ \times 100\%$

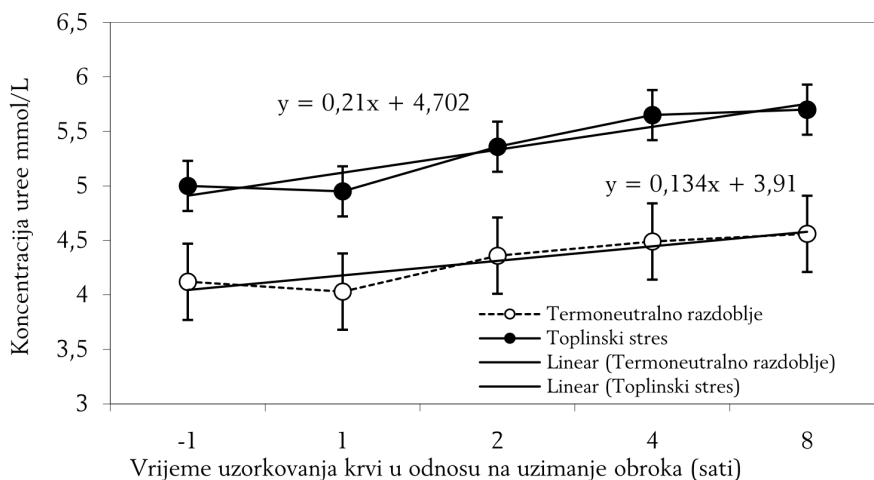
^cB×EX - Interakcija linearnog trenda i stupnja ekstrakcije

NS - statistički nesigifikantno

trendom nakon uzimanja obroka (grafikon 4). Smanjena koncentracija NEFA tijekom toplinskog stresa objašnjava se povećanom osjetljivošću krava na inzulin, koji ima antipolitički efekt, a dovodi do učinkovitijeg iskorištavanja glukoze u energetske svrhe (Itoh i sur., 1998; Wheelock i sur., 2010). Negativni trend postprandijalne koncentracije NEFA izraženiji je u toplinskom stresu, dok je stupanj ekskrecije kroz mliječnu žlijezdu manji (tablica 4). Pozitivan trend postprandijalne koncentracije BHB je znatno manji u toplinskom stresu, a manji je i stupanj njegove ekskrecije kroz vime (tablica 4). Promijenjen trend postprandijalne koncentracije NEFA i BHB uz smanjenu ekstrakciju (samim tim i povećano zadržavanje) ovih metabolita u mliječnoj žlijezdi tijekom toplinskog stresa dovodi do zaključka da mliječna žlijezda više koristi ove izvore energije za proizvodnju mlijeka tijekom djelovanja toplinskog stresa. Povećana upotreba BHB u procesu proizvodnje mlijeka smanjuje upotrebu glukoze i proizvodnju laktoze u mliječnoj žlijezdi i dovodi do depresije proteina u mlijeku (Cant i sur., 1993), što se slaže s dobivenim rezultatom u ovom istraživanju (tablica 5). Masne kiseline i ketoni daju značajno veći toplinski prinos u metaboličkim reakcijama, te se može pretpostaviti da je mliječna žlijezda krava dodatno opterećena toplinom, pa smanjenom proizvodnjom mlijeka po-

kušava očuvati vlastitu homeotermiju. Pretpostavka nalazi uporište u činjenici da tijekom toplinskog stresa raste temperatura svježe pomuženog mlijeka (West i sur., 2003). Ovakav nalaz zahtijeva dodatno istraživanje i određivanje masnih kiselina i acetata u mlijeku, čija koncentracija ovisi o upotrebi NEFA i BHB u procesu sekrecije mlijeka. U tablici 5 jasno se vidi da interakcija postprandijalnog trenda NEFA i BHB i stupanj njihove ekskrecije iz vimena značajno koreliraju s proizvodnjom mlijeka tijekom toplinskog stresa, što je rezultat u skladu s prethodno danim fiziološkim razmatranjima.

Utjecaj uree na proizvodnju i kvalitetu mlijeka u toplinskom stresu: Urea u krvotoku potječe iz buraga ili iz mišićnog tkiva. Stvara se u jetri iz amonijaka koji nastaje razgradnjom proteina u predželucima, ili uslijed katabolizma proteina i upotrebe aminokiselina u procesu glukoneogeneze, što je karakteristika metaboličkog prestrojavanja tijekom toplinskog stresa (Schneider i sur., 1988; Ronchi i sur., 1999; Jenkins i McGuire, 2006; Cincović i sur., 2010b). S obzirom da urea potječe od amonijaka koji se stvara u buragu u procesu mikrobiološke fermentacije proteina, koncentracija uree raste u postprandijalnom razdoblju (grafikon 5). Koncentracija uree je značajno viša u toplinskom stresu. Budući da urea lako prolazi kroz staničnu membranu, lako dospijeva



Grafikon 5. Utjecaj toplinskog stresa na postprandijalnu koncentraciju uree (mmol/L)

u mlijeko, pa je ekskrecija uree manja tijekom djelovanja toplinskog stresa (tablica 4). Koncentracija uree u krvi negativno korelira s količinom proizvedenog mlijeka kod krava (Orozco-Hernandez i Brisson, 1995). Korelacija uree i proteina u mlijeku je negativna (Chládek, 2002), što se slaže s rezultatima ovog istraživanja (tablica 5).

Zbog smanjenog dotoka glukoze u mliječnu žlijezdu tijekom djelovanja toplinskog stresa, mliječna žlijezda pokazuje metaboličku fleksibilnost i počinje koristiti neesterificirane masne kiseline i ketone kao energetske izvore bitne za proizvodnju mlijeka. Ovakva adaptacija, zajedno s povišenom koncentracijom uree, direktno utječe na proizvodnju mlijeka tijekom toplinskog stresa. Drugo objašnjenje moglo bi biti u vezi povećanog toplinskog opterećenja vimena zbog povećanog sagorijevanja masnih metabolita. Konačno, treba reći da toplinski stres dovodi do povećanog oksidativnog opterećenja mliječne žlijezde i razvoja subkliničkog mastitisa (Cincović i Belić, nepublicirano), što može dodatno umanjiti proizvodnju mlijeka. Dalje istraživanje treba nastaviti u ovom smjeru.

Zaključak

Tijekom toplinskog stresa glukoza se povećano koristi u energetske svrhe u organizmu, pa manja količina glukoze dolazi do mliječne žlijezde. Zbog toga opada koncentracija laktoze u mlijeku. Mliječna žlijezda se adaptira na smanjen dotok glukoze pa povećano koristi NEFA i BHB za svoje potrebe, što

negativno utječe na mliječnu mast i proteine. Urea koja je u povećanoj koncentraciji tijekom toplinskog stresa lako prolazi kroz mliječnu žlijezdu i pokazuje negativan utjecaj na proteine mlijeka. Sve navedeno smanjuje količinu proizvedenog mlijeka. Smanjen dotok glukoze u mliječnu žlijezdu, povećano iskorištavanje NEFA i BHB za proizvodnju mlijeka i povišena koncentracije uree direktno utječu na proizvodnju i kvalitetu mlijeka tijekom toplinskog stresa.

Metabolic changes and mammary uptake of metabolites in milk in heat stressed cows

Summary

Heat stress is a major economic problem in dairy cattle because it leads to reduced milk production and quality. Reduced milk production and quality is the result of reduced feed intake and changes in post-absorptive metabolism of nutrients. The aim of this study was to investigate the post-absorptive use of glucose, non-esterified fatty acids (NEFA), beta-hydroxybutyrate (BHB) and urea in milk production by determination of postprandial concentration of metabolites and the degree of metabolites extraction in milk glands. The use of glucose for energy production was increased during heat stress, and a small amount of glucose was transported to the mammary gland. Therefore, it decreased concentration of lactose in milk. The uptake of NEFA and BHB

in mammary gland was significantly greater during heat stress, due to adaptation to decreased supply of glucose. This adaptation has shown a negative impact on the percentage of milk fat and protein. Elevated concentration of urea is the result of heat stress; it easily passes through the mammary gland and shows a negative impact on milk proteins. All these changes show a negative effect on the amount of milk produced during heat stress. Reduced influx of glucose in the mammary gland, increased utilization of NEFA and BHB in milk production and increased concentrations of urea during heat stress directly affect the production and quality of milk.

Key words: dairy cows, heat stress, milk production, metabolism

Literatura

- Albright, J.L., Alliston, C.W. (1972): Effects of varying the environment upon performance of dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 32, 566-577.
- Ametaj, B.N., Emmanuel, D.G.V., Zebeli, Q., Dunn, S.M. (2009): Feeding high proportions of barley grain in a total mixed ration perturbs diurnal patterns of plasma metabolites in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92, 1084-1091.
- Baird, G.D., Heitpnan, R.J., Reid, I.M., Symonds, H.W., Lomax, M.A. (1979): Effects of food deprivation on ketonemia, ketogenesis and hepatic intermediary metabolism in the eonlactating cow. *Biochem. J.* 178, 35.
- Beede, D.K., Collier, R.J. (1986): Potential nutritional strategies for intensively managed cattle during thermal stress. *J. Anim. Sci.* 62, 543-554.
- Belić, B., Cincović, M.R., Stojanović, D., Kovačević, Z., Medić, S., Simić, V. (2010): Hematology parameters and physical response to heat stress in dairy cows. *Contemporary agriculture* 59 (1-2), 161-166.
- Bohmanova, J., Misztal, I., Cole, J.B. (2007): Temperature humidity indices as indicators of milk production losses due to heat stress. *J. Dairy Sci.* 90, 1947-1956.
- Cant, J.P., DePeters, E.J., Baldwin, R.J. (1993): Mammary uptake of energy metabolites in dairy cows fed fat and its relationship to milk protein depression. *J. Dairy Sci.* 76, 2254-2265.
- Chládek, G. (2002): Blood plasma urea and its relationship with yield and composition of cows milk. *Med. Veter.* 58, 871-873.
- Cincović, M.R., Belić, B. (2009): Influence of thermal stress to milk production and quality in dairy cows. *Vet J Republic of Srpska* 9 (1), 53-56.
- Cincović, M.R. (2010): Toplotni stres krava - fiziologija i patofiziologija, Monografija, Zadužbina Andrejević, Beograd.
- Cincović, M.R., Belić, B., Đokić, S. (2010a): Uticaj toplotnog stresa na reprodukciju mlečnih krava. *Veterinarski žurnal R. Srpske* 10 (2), 164-159.
- Cincović, M.R., Belić, B., Stevančević, M., Lako, B., Toholj, B., Potkonjak, A. (2010b): Diurnal variation of blood metabolite in dairy cows during heat stress. *Contemporary agriculture* 59 (3-4), 300-305.
- Cincović, M.R., Belić, B., Stojanović, D., Kovačević, Z., Medić, S., Simić, V. (2010d): Metabolic profile of blood and milk in dairy cows during heat stress. *Contemporary agriculture* 59 (1-2), 167-172.
- Cincović, M.R., Belić, B., Vidović, B., Krčmar, L.J. (2011a): Reference values and frequency distribution of metabolic parameters in cows during lactation and pregnancy. *Contemporary agriculture* 60 (1-2), 175-182.
- Cincović, M.R., Belić, B., Toholj, B., Stevančević (2011b): On-farm measurement of heat stress load in dairy cows. 12th Middle European Buiatric Congress, Croatia-Pula, May18-22, Book of Proceedings 285-289.
- Cincović, M.R., Belić, B., Toholj, B., Stevančević, M., Potkonjak, A., Lako, B. (2011c): Influence of respiration rate and rectal temperature in holstein cows to milk production during heat stress. *Contemporary agriculture* 60 (1-2), 183-189.
- Đoković, R. (2010): Endokrini status mlečnih krava u peripartalnom periodu, Monografija, Agronomski fakultet, Čačak.
- Gantner, V., Mijić, P., Kuterovac, K., Solić, D., Gantner, R. (2011): Temperature-humidity index values and their significance on the daily production of dairy cattle, *Mljekarstvo* 61 (1), 56-63.
- Grummer, R.R., Carroll, D.J. (1991): Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle. *J Anim Sci.* 69, 3838-3852.
- Guo, J., Peters, R.R., Kohn, R.A. (2007): Effect of a transition diet on production performance and metabolism in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90, 5247-5258.
- Itoh, F., Obara, Y., Rose, M.T., Fuse, H., Hashimoto, H. (1998): Insulin and glucagons secretion in lactating cows during heat exposure. *J Anim Sci* 76, 2182-2189.
- Jenkins, T.C., McGuire, M.A. (2006): Major advances in nutrition: impact on milk composition. *J Dairy Sci* 89, 1302-1310.
- Kadzere, C.T., Murphy, M.R., Silanikove, N., Maltz, E. (2002): Heat stress in lactating dairy cows: a review. *Livestock Production Science* 77, 59-91.
- McDowell, D., Hooven, N., Cameron, K. (1979): Effects of climate on performance of Holsteins in first lactation. *J Dairy Sci* 68, 2418-2435.
- NRC - National Research Council (1989): In: 6th Revised Edition Update. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. National Academy Press, Washington, DC.
- Orozco-Hernandez, J.R., Brisson, G.J. (1995): Juice extracted grass pellets and sodium Bicarbonate for cows fed timothy silage of two chop lengths. *J. Dairy Sci.* 78, 2415-2423.

27. Popović, M. (2008): Biohemija životinja, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
28. Rhoads, M.L., Rhoads, R.P., VanBaale, M.J., Collier, R.J., Sanders, S.R., Weber, W.J., Crooker, B.A., Baumgard, L.H. (2009): Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: I. Production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin. *J. Dairy Sci.* 92, 1986-1997.
29. Ronchi, B., Bernabucci, U., Lacetera, N., Verini Supplizi, A., Nardone, A. (1999): Distinct and common effects of heat stress and restricted feeding on metabolic status in Holstein heifers. *Zootecnica e Nutrizione Animale* 25, 71-80
30. Rook, J.A.F. (1979): The role of carbohydrate metabolism in the regulation of milk production. *Proc. Nutr. Soc.* 38, 309.
31. Schneider, P.L., Beede, D.K., Wilcox, C.J. (1988): Nycterohemeral patterns of acid-base status, mineral concentrations and digestive function of lactating cows in natural or chamber heat stress environments. *J. Anim. Sci.* 66, 112-125.
32. Spiers, D.E., Spain, J.N., Sampson, J.D., Rhoads, R.P. (2004): Use of physiological parameters to predict milk yield and feed intake in heat-stressed dairy cows. *J. Therm. Biol.* 29 (7-8), 759-764.
33. Sutton, J.D., Hart, I.C., Morant, S.V., Schuller, E., Simmonds, A.D. (1988): Feeding frequency for lactating cows: diurnal patterns of hormones and metabolites in peripheral blood in relation to milk-fat concentration. *British Journal of Nutrition* 60, 265-274
34. West, J.W., Mullinix, B.G., Bernard, J.K. (2003): Effects of Hot, Humid Weather on Milk Temperature, Dry Matter Intake and Milk Yield of Lactating Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 86, 232-242.
35. Wheelock, J.B., Rhoads, R.P., VanBaale, M.J., Sanders, S.R., Baumgard, L.H. (2010): Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 93, 644-655.
36. Wylie, A.R.G., Woods, S., Carson, A.F., McCoy, M. (2008): Periprandial Changes in Metabolite and Metabolic Hormone Concentrations in High-Genetic-Merit Dairy Heifers and Their Relationship to Energy Balance in Early Lactation. *J. Dairy Sci.* 91, 577-586.