

**PRILOG POZNAVANJU KRETANJA KONCENTRACIJA
LH I PROGESTERONA U JUNICA TRETIRANIH SA GnRH**
**ADDITION TO THE KNOWLEDGE OF LH- AND PROGESTERONE
CONCENTRATION CHANGES IN HEIFERS TREATED WITH GnRH**

Z. Robić

UVOD

Izazivanje estrusa pomoću inkreta hipotalamusa (GnRH) je vrlo interesantan zahvat u sklopu intenzifikacije govedarske proizvodnje. Ovaj zahvat se temelji na djelatnosti dijela endokriniuma koji regulira odvijanje procesa reprodukcije pobuđivajući lučenje LH. Funkcija LH je višestruka:

- uzrokuje pucanje Grafovog folikula (ovulacija)
- podstiče stvaranje žutog tijela
- u zajednici sa FSH izaziva rast folikula i produkciju steroidnih hormona.

Istraživanja Skubiszewskog i suradnika 1983. i J. Arendarčika 1983. su pokazala da dolazi do povećanja koncentracije LH u perifernoj krvi, koja doseže visinu koncentracije LH u preovulatornoj fazi. Povezano s time se prišlo određivanju koncentracije LH i progesterona kod junica u diestrusu.

MATERIJAL I METODA RADA

Ispitivanje je obavljeno na dvije junice istočnofrizijske pasmine u dobi od 14 mjeseci. Junice su se nalazile na eksperimentalnoj farmi Cornell Univerziteta Ithaca, New York, USA.

Laboratorijska obrada sakupljenih uzoraka krvi je izvršena u radio izotopnom laboratoriju Veterinarskog koledža Cornell Univerziteta Ithaca, New York, USA.

U obe junice su bili uvedeni kateteri u venu jugularis. Uzimanje uzoraka od po 5 ml krvi se vršilo na slijedeći način:

- prvo uzimanje 30 minuta prije injekcije GnRH
- drugo uzimanje 15 minuta prije injekcije GnRH
- treće uzimanje 1 minutu prije injekcije GnRH.

Potom se u venu iniciralo 50 ml GnRH, a odmah iza toga se inicirala solucija od 10 ml fiziološke otopine.

- četvrto uzimanje 5 minuta poslije injekcije GnRH:
- peto uzimanje 10 minuta poslije injekcije GnRH
- šesto uzimanje 15 minuta poslije injekcije GnRH
- sedmo uzimanje 20 minuta poslije injekcije GnRH
- osmo uzimanje 30 minuta poslije injekcije GnRH
- deveto uzimanje 45 minuta poslije injekcije GnRH
- deseto uzimanje 60 minuta poslije injekcije GnRH
- jedanaesto uzimanje 90 minuta poslije injekcije GnRH
- dvadeseto uzimanje 120 minuta poslije injekcije GnRH.

Nakon što se u epruveti formirao ugrušak, isti je uklonjen, a uzorci su prenešeni u laboratorij, gdje su ostavljeni preko noći na sobnoj temperaturi i ujutro centrifugirani na 2500 okretaja u trajanju od 5 minuta. Po centrifugiranju je uzet serum (sa plastičnim pipetama) i stavljen u plastične polipropilenske tube koje su zatim stavljene u hladnjak za duboko smrzavanje. Određivanje LH i progesterona je obavljeno analitičkim postupcima koji se primjenjuju u radioizotopnom laboratoriju Vet. koledža Cornell univerziteta u Ithaci, New York. U prethodno pripremljenu tubu je stavljeno 400 ml PBSG (Phosphate Buffered Saline — 0,1% gelatine) zatim je dodano 100 ml uzorka seruma junica. Iza dodavanja seruma od junica sadržaju tube se dodalo 200 μ l otopljenog antiseruma (kuničji anti-ovine LH serum) i čitav sadržaj se promiješao na Wortex mješalici. Sadržaj tube je nakon miješanja sa Wortex-om podvrgnut inkubaciji od 24 h na temperaturi 4°C. Po završenoj inkubaciji, inkubatu je dodano 100 ml radioizotopa (Radioiodinated ovine LH).

Inkubat je zatim promiješan na Wortex-u i ponovno stavljen na inkubaciju u trajanju od 24 h kod +5°C. Završetkom inkubacije uzorcima je dodano 200 ml ARGG (ovčji anti-kunić gamaglobulin). Zatim se uzorci promiješani na Wortex-u i stavljeni na inkubaciju u trajanju od 72 h kod 4°C. Inkubiranim sadržaju je dodano 3 ml hladnog PBS (Phosphate Buffered Saline) bez miješanja. Sadržaj tube je tada stavljen na centrifugiranje kod 1000 okretaja u trajanju od 30 min. Kada je centrifugiranje završeno oprezno je dekantiran supernatant u posudu za tekuće radioaktivne otopine. Ostatak tube je podvrgnut mjerenju sa gama brojačem (Beckman).

Rezultati mjerenja su na osnovu procenta vezivanja uspoređivani sa procentom vezivanja standarda prikazanih na standardnoj krivulji (konstruiranoj na semi-logaritamskom papiru) i na taj način je izvršena kvantifikacija istih.

Određivanje progesterona se vršilo po slijedećoj proceduri: tube 8 \times 50 ml sa premazom antiprogesterona 11 — BSA na unutarjim stijenkama su stavljene u hladnu kupelj (radi kočenja reakcije dok se svi reagenti ne stave u tubu). U tube predviđene za uzorak je dodano 800 ml mješavine PBS-0,05 BSA. Uzorci seruma su promiješani na Wortex-u, zatim je iz svakog uzorka uzeto 100 ml i dodano sadržaju tube. Tome je dodana otopina 100 ml progesterone — 11 Succinil ¹²⁵J. Nakon dodavanja izotopa tuba sa sadržajem je izvađena iz hladne kupelji i podvrgnuta miješanju sa Wortex-om iz čega je izvršeno inkubiranje u trajanju od 2 sata na temperaturi od 37°C.

Završetkom inkubacije isiše se pomoću vacuum boce sadržaj tube, zatim se doda 1,3 ml vode (da se isperu stijenke) i ponovno ispere, zatim se tuba podvrgne mjerenju sa gama brojačem.

Na osnovu postotka vezivanja ispitivanih uzoraka u odnosu na standardnu krivulju izračunata je količina progesterona u serumu junica.

REZULTATI

Rezultati ispitivanja kretanja koncentracije progesterona i LH kod junica u diestrusu prije i poslije injekcije GnRH su prikazani u tabeli broj 1 i grafikonu broj 1.

Tab. 1

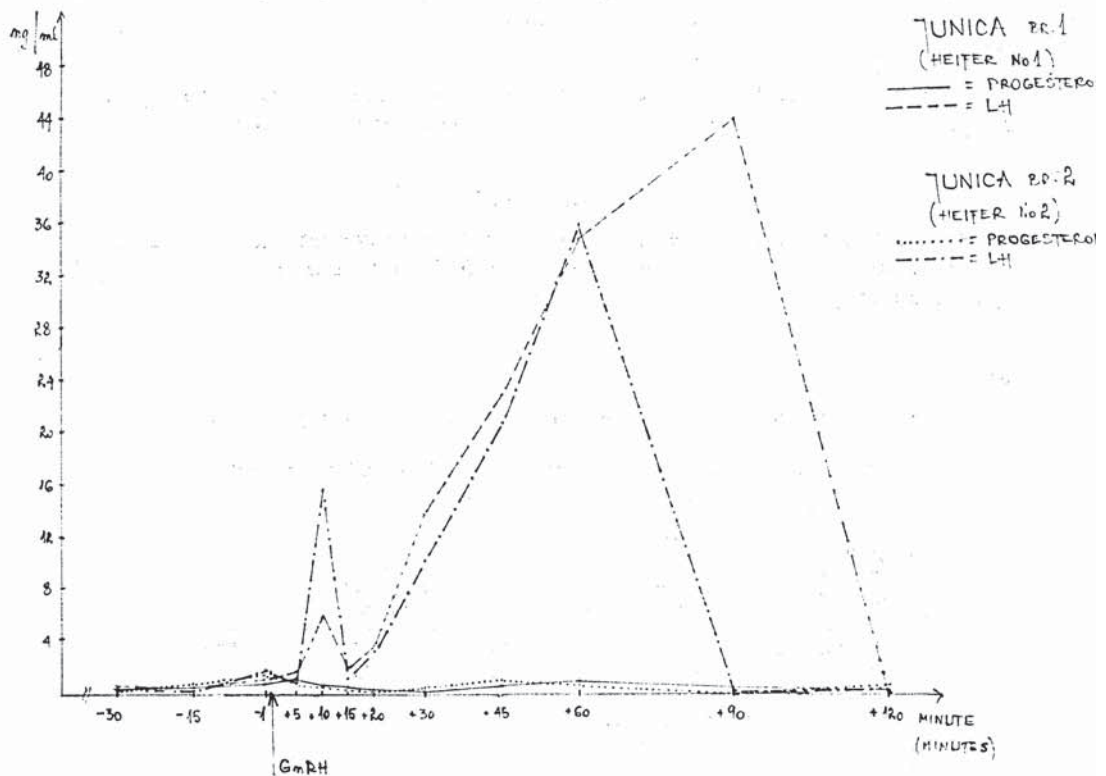
Koncentracija LH i progesterona u junica prije i poslije iniciranja GnRH

Concentration LH and Progesterone before and after GnRH administration

Vrijeme uzimanja <i>Sampling time</i>	Junica 1 (<i>Heifer 1</i>) progesteron ng/ml	LH	Junica 2 (<i>Heifer 2</i>) progesteron ng/ml	LH
- 30 minuta	0,38	0,58	0,36	0,59
- 15 "	0,39	0,39	0,79	0,42
- 1 "	0,72	1,4	1,15	1,80
0 "	injekcija GnRH			
+ 5 "	0,95	1,49	0,78	0,78
+ 10 "	0,56	5,9	0,49	15,70
+ 15 "	0,43	2,0	0,39	1,3
+ 20 "	0,36	3,65	0,24	3,2
+ 30 "	0,28	13,9	0,46	10,1
+ 45 "	0,56	23,0	0,82	20,8
+ 60 "	0,80	35,0	0,64	36,0
+ 90 "	0,40	44,0	0,0	0,10
+ 120 "	0,38	0,32	0,69	0,37

DISKUSIJA

Pregledom rezultata istraživanja prikazanih u tabeli broj 1 i grafikonu broj 1 se jasno vidi kretanje koncentracije LH i progesterona. Kretanje progesterona je nepromijenjivo nakon injekcije GnRH dok se kretanje LH mijenja. Kretanje LH prije iniciranja GnRH prati baznu liniju (vidi grafikon broj 1) te nakon 10 minuta po iniciranju dolazi do naglog povećanja koncentracije da bi već u 15-estoj minuti kod obe životinje došlo do pada koncentracije na istu razinu (kao što je to bilo prije iniciranja). Od 20-ete minute po iniciranju koncentracije LH počinje naglo rasti tako da u 90-etoj minuti kod životinje broj 1 dostiže visinu 46 ng/ml, a kod životinje broj 2 taj maksimum je već postignut nakon 60 minuta (po iniciranju GnRH). Nakon postignutog maksimuma slijedi nagli pad na baznu liniju kod obe životinje s time da kod junice broj 1 pad nastaje kasnije nego što je to slučaj kod junice



Grafikon broj 1

Grafički prikaz LH i progesterona u junica prije i poslije iniciranja GnRH

(Curve of Concentration LH and progesterone before and after GnRH administration)

broj 2. Kod obe junice je tok krivulja bifazni tj prva faza se manifestira u povećanoj koncentraciji LH u razdoblju između 5 i 10 minuta nakon iniciranja da bi se zatim pojavio pad, a 5 minuta kasnije nagli porast. Injeksijom GnRH je pobuđena aktivnost prednjeg režnja hipofize koja je počela lučiti LH dosegaši isti nivo kao što je to i slučaj u proestrusu. Povećano lučenje LH u krava i zrelih junica se zbiva prema Buttleru 1983. u preovulatornoj fazi i traje manje od 8 sati. Hansel 1983. navodi da u prostrusu postoji lučenje gonadotropnih hormona u dovoljnim količinama da izazovu ovulaciju. Lučenje gonadotropnih hormona je posljedica djelovanja neurohormona koje izlučuje hipotalamus. Lučenje LH je posljedica lučenja gonadotropin realizing hormona (GnRH) iz hipotalamusa. SCHALLY i sur. 1971. su identificirali i izolirali sekret hipotalamusa koji pobuđuje lučenje FSH i LH i nazvali ga gonadotropin realiziranog hormona (GnRH).

Uloga LH nije do kraja sasvim razjašnjena, između ostalog se smatra da učestvuje u sintezi progesterona preko holesterola. U prilog ove postavke su

istraživanja Behrmana i Armstronga 1969. koji su 15 minuta nakon tretiranja štakora sa LH utvrdili signifikantno povećanje holesterol esteraze, koja konvertira estere u slobodni holesterol koji pobuđuje sintezu progesterona. Nalbandov 1973. smatra da LH i FSH mogu zajednički i pojedinačno stimulirati ovulaciju. Preovulatornu aktivnost FSH i LH Nalbandov smatra da je to ovulaciono inducirajući hormonski kompleks.

U svakom slučaju kretanje LH daje sliku fiziološkog stanja životinja u proestrusu na osnovu čega se mogu planirati odgovarajući zahvati u pogledu reprodukcije.

ZAKLJUČAK

Kretanje LH u junica u diestrusu pod utjecajem GnRH (Gonadotropnog realising hormona) je bifazno.

Prva faza porasta koncentracije LH je utvrđena između 5 i 15 minuta nakon iniciranja GnRH kod obe životinje.

U prvoj fazi maksimalna se koncentracija kreće od 5,9 do 15,7 ng/ml. Druga faza rasta LH je započela u 15-estoj minuti da bi kod jedne životinje postigla maksimum od 44 ng/ml u 90-etoj minuti dok bi kod druge životinje postigla maksimum u 60-etoj minuti nakon iniciranja GnRH. Kretanje progesterona u ispitivanom razdoblju se kod obe životinje kreće oko bazne linije. Visina progesterona nije prelazila vrijednost od 1,15 ng/ml.

SUMMARY

LH-changes in heifers in diestrus under the influence of GnRH (Gonadotrop realising hormone) have two phases.

The first phase of the LH concentration increase has been determined between 5 and 15 minutes after having initiated GnRH at both animals.

In the first phase maximum concentration changes from 5.9 to 15.7 ng/ml. The second phase of growing has started in the 15th minute. One animal has reached the maximum of 44 ng/ml the 90th minute, while the other one had the maximum in the 60th minute after having initiated GnRH. In the research period the progesterone changes ranges within the basis line. The progesterone peak has not passed the value of 1.15 ng/ml.

LITERATURA

Arendarčik J., Halagan J.: Blood LH and 17 -oestradiol concentrations in sheep after GnRH and CAP treatment, Applications of Radioimmunoassay and Related Methode in Animal Science, Polska Akademia nauk Zeszyt 261.

Behrman H. R. and Armstrong D. T.: Endocrinology 85, 474, 1969.

Buttler W. R.: Osobni kontakti na Cornell University Ithaca, N. Y., 1982.

Hansel W.: An Introduction to Endocrinology and Reproduction, Cornell University College of Veterinary Medicine, Ithaca N. Y., 1983.

Nalbandov A. V.: Handbook of Physiology, R. G. Greep and E. B. Astwood eds Sect 7 Vol II Part 1, American Physiological Society Washington D. C., 1973.

Schally A. V., Arimura A., Kastin A., Matsou H., Baba Y.: Redding, RM. Nair, L. Debeljak, and S. F. White, Science 173: 1036, 1971.

Skubiszewski B., Przekop F., Wroblewska B., Stupnicka E., Domanski E.: Surges of LH and Induction of Ovulation in Anoestrous Sheep after prolonged infusion of Low Doses of LH-RH., Applications of Radioimmunoassay and Related Methode in Animal Science, Polska Akademia nauk Zeszyt 261.

Adresa autora:

Dr Zvonko Robić,
Institut stočarstvo i mljekarstvo
Fakultet poljoprivrednih znanosti,
Šimunska 25, 41000 Zagreb

**UTICAJ GENOTIPA, GUSTINE USEVA I RAZLIČITIH
KOLIČINA AZOTA NA PRINOS KUKURUZA U
USLOVIMA NAVODNJAVANJA U JUGOSLAVIJI I
BUGARSKOJ**

**EFFECT OF MAIZE GENOTYPES, PLANT AND DIFFERENT AMOUNTS OF
NITROGEN ON GRAIN YIELD UNDER IRRIGATION IN YUGOSLAVIA
AND BULGARIA**

G. Vasić

Institut za kukuruz »Zemun Polje«, Beograd-Zemun

UVOD

Navodnjavanje kukuruznih polja kao mera za dobijanje visokih i stabilnih prinosa kukuruza zauzima sve značajnije mesto u poljoprivrednoj proizvodnji naše zemlje i susedne Bugarske. Aktualnost problematike inspirisala je istraživače Instituta za kukuruz iz Zemun Polja (Jugoslavija) i Kneže (Bugarska) da zajednički prouče uticaj različitih agroekoloških uslova i nekih agrotehničkih mera (gustina useva, đubrenje) na prinos hibrida kukuruza različitih FAO grupa zrenja, selekcionisanih u ovim Institutima, kada se gaje u uslovima navodnjavanja. Novostvoreni hibridi raspolažu velikom potencijalnom rodnošću, koji se može iskoristiti isključivo u optimalnim uslovima gajenja. Ovi uslovi su definisani dovoljnim količinama vode i hraniva u zemljištu kao i potrebnim brojem biljaka po jedinici površine.

Gustina useva je poznata kao jedna od najvažnijih agrotehničkih mera koja direktno utiče na visinu prinosa. Još su *Kieselbach* i sar. (2) ukazivali na potrebu smanjenja broja biljaka po jedinici površine, usled smanjenog sadržaja vode u zemljištu. Uvođenjem navodnjavanja padavine prestaju da budu ograničavajući faktor uspešne proizvodnje kukuruza (*Vasić*, 10, 12). Veliki broj istraživača kod nas i u svetu, kao što su *Dungah* i sar. (1), zatim *Kohnke* i sar. (3), *Rounds* i sar. (8) i dr. preporučuju znatno povećanje broja biljaka po jedinici površine, u uslovima navodnjavanja, nego u uslovima gajenja bez navodnjavanja.

Značajno mesto u proizvodnji kukuruza ima i đubrivo. Prema *Stojkoviću* i sar. (9) đubrivo utiče sa 42% na povećanje prinosa staništa. *Kolčar* i sar. (4) su utvrdili da veće količine NPK hraniva od 330 kg/ha nisu imale značaja na formiranje prinosa kukuruza, kao i da se granica optimalne gustine pomera u zavisnosti od količine đubriva u uslovima gajenja bez na-